RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DEI COCCIDI DI *TALPA EUROPAEA*

GUIDO AGOSTINUCCI (*)

Nello scorso inverno ebbi occasione di osservare una grande frequenza di oocisti di coccidi nel contenuto intestinale di alcune talpe che venivano utilizzate per ricerche elmintologiche. Fui pertanto indotto a svolgere una ricerca sistematica raccogliendo il contenuto intestinale degli animali che venivano man mano sacrificati.

Assicuratomi della presenza di oocisti, ponevo il materiale in coltura in soluzione acquosa al 0,50% di bicromato di potassio, a temperatura ambiente (20°-24° C.). Quotidianamente effettuavo un controllo onde determinare il tempo di maturazione delle oocisti.

Le misurazioni delle oocisti e delle sporocisti sono state compiute su 100 individui per ciascun soggetto.

Ho preso complessivamente in esame 28 *Talpa europaea,* provenienti dai dintorni di Roma, e tutte sono risultate parassitate da coccidi. La maggior parte di esse, e cioè 24, albergavano una sola specie parassita; le altre quattro ne presentavano due.

Riferisco qui di seguito i dati relativi alle specie repertate:

Cyclospora caryolytica Schaudinn, 1902

Le caratteristiche dei miei esemplari corrispondono perfettamente a quelle della descrizione di Schaudinn, sia dal punto di vista morfologico, che, in linea di massima, anche per le dimensioni. Ritengo pertanto utile riportare i dati delle misurazioni da me effettuate:

Oocisti

lunghezza = μ 12,30 $\pm$ 0.42
larghezza = μ 10,96 $\pm$ 0,69

(*) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di parassitologia.*

Sporocisti

larghezza = μ 3,95 ± 0,29
lunghezza = μ 10,16 ± 0,48

Tale specie è risultata veramente generalizzata nel materiale da me esaminato essendo presente in tutte le 28 talpe.

ISOSPORA TALPAE n. sp.

Questa specie presenta oocisti immature (fig. 1) di forma ovalare, incolori, a parete liscia piuttosto sottile, apparentemente a doppio contorno, con micropilo spesso evidente. Il contenuto dell'oocisti è rappresentato da una massa granulare piuttosto grossolana che ne occupa quasi l'intero volume.

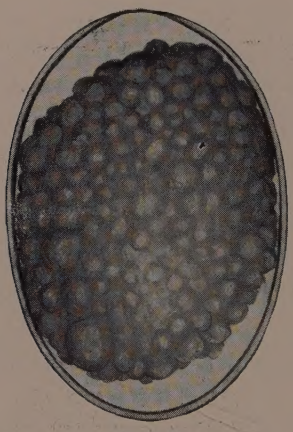

Fig 1

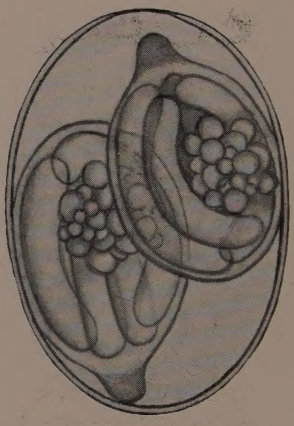

Fig. 2

L'oocisti matura (fig. 2) contiene due sporocisti piriformi, provviste al polo più sottile di corpo di Stiedaae, ciascuna presentante quattro sporozoiti e un corpo residuo sporocistico. Non si osservano corpi residui oocistici nè granuli polari.

I dati metrici delle oocisti e delle sporocisti e le relative deviazioni standard sono le seguenti:

Oocisti

lunghezza = μ 17,83 ± 1,35
larghezza = μ 11,95 ± 0,78
indice morfologico = 0,69 ± 0,06

Sporocisti

lunghezza = μ 12, ± 0,92
larghezza = μ 7,35 ± 0,61

La maturazione delle oocisti avviene in tre giorni.

In questa specie si verifica un fenomeno che è già stato segnalato da altri AA. (HOARE in *Isospora dirumpens*, parassita di *Bitis orientalis;* LAVIER in *Isospora fragilis*, parassita di *Vipera aspis*, e in *Isospora brumpti*, parassita di *Bufo viridis*). Durante la maturazione la parete dell'oocisti subisce un progressivo assottigliamento, aderendo alle due sporocisti. Il profilo della oocisti, all'inizio tondeggiante, finisce per assumere una forma del tutto irregolare; mentre però nei casi su ricordati il fenomeno inizia già durante la segmentazione, in questa specie è meno precoce e si rende evidente solo a maturazione avvenuta.

Questa specie è risultata presente, sempre in un gran numero di individui, in tre delle talpe esaminate.

Poichè fin'ora nessuna specie del genere *Isospora* è stata segnalata nella talpa e poichè, d'altro canto, le caratteristiche morfologiche e dimensionali dell' *Isospora* qui sopra descritta si differenziano da quelle delle altre specie fin'ora note del genere, ritengo si tratti di una nuova specie per la quale propongo il nome di *Isospora talpae.*

ISOSPORA RICCII n. sp.

Un terzo coccidio ho osservato in una sola delle talpe, e rappresentato da un modesto numero di individui. L'oocisti immatura si presenta (fig. 3) di

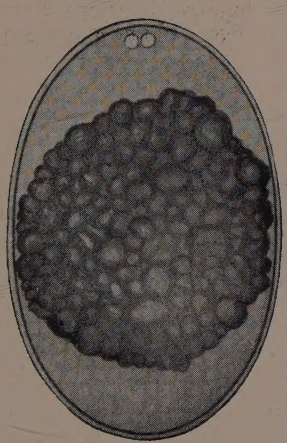

Fig. 3

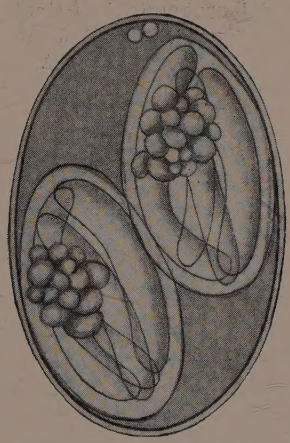

Fig. 4

forma elissoidale, di colorito giallastro, a parete liscia piuttosto spessa apparentemente a doppio contorno, ed è occupata per circa due terzi del suo volume da una massa granulare; ad uno dei poli si notano due piccoli corpi polari.

A maturazione avvenuta l'oocisti contiene due sporocisti ellissoidali, ciascuna contenente quattro sporozoiti e un corpo residuo sporocistico piuttosto voluminoso (fig. 4). Non si osservano corpi residui oocistici nè micropilo.

I dati delle misurazioni da me effettuate, e le relative deviazioni standard, sono le seguenti:

Oocisti

lunghezza = μ 22,91 $\pm$ 0,77
larghezza = μ 14,54 $\pm$ 0,53
indice morfologico (larghezza : lunghezza) = 0,64 $\pm$ 0,02.

Sporocisti

lunghezza = μ 14,76 $\pm$ 0,67
larghezza = μ 8,12 $\pm$ 0,52

La maturazione di questa *Isospora* si verifica in due giorni.

Per le sue caratteristiche morfologiche e dimensionali anche questa *Isospora* si differenzia nettamente da tutte quelle finora note nonchè da quella precedentemente descritta. Ritengo pertanto che anch'essa debba considerarsi nuova, e propongo di contraddistinguerla con il nome di *Isospora riccii* dedicandola al collega ed amico Prof. M. Ricci.

Ringraziamenti:

Ringrazio la Sig.ra dott. M. Polizzi che cortesemente ha raccolto parte del materiale, e il dott. E. E. Weher dell'*Agricoltural Research, Department of Agricolture, U.S.A.* per le notizie bibliografiche fornitemi.

RIASSUNTO

All'esame del contenuto intestinale di 28 *Talpa europaea* sono state repertate tre specie di Coccidi due delle quali sono risultate nuove e vengono descritte con il nome di *Isospora talpae* e *Isospora riccii*. La terza specie, *Cyclospora caryolytica* Sch., è risultata presente in tutte le talpe prese in esame.

SUMMARY

In the intestinal content of 28 *Talpa europaea* three species of *Coccidia* have been found, two of which are described as new species: *Isospora talpae* and *Isospora riccii*.

The third species, *Cyclospora caryolytica* Sch., has been found present in all examined moles.

BIBLIOGRAFIA

Eimer T. (1870): Ueber die ei-und kugelförmigen sogenannten Psorospermien der Wirbelthiere. Würzburg.

Grassi B. (1881): Intorno ad alcuni protisti endoparassitici, ed appartenenti alle classi dei Flagellati, Lobosi, Sporozoi e Ciliati. *Atti Soc. Ital. Sci. Nat., 24*, 135.

Hoare C. A. (1933). Studies on some new ophidian and avian Coccidia with a Revision of the classification of the *Eimeriidea. Parasitology, 25*, 359.

Lavier G. (1940). Description d'*Isospora fragilis* L. Leger 1904, coccidie intestinale de *Vipera aspis. Bull. Soc. Pathol. exot., 34*, 25.

Lavier G. (1941). Une nouvelle coccidie intestinale du genere *Isospora. Ann. Parasit. Hum Comp., 18*, 1.

Reichenow E. (1921). Die Coccidien. Prowazek's Handb. d. Path. Prot., *3*, 1136.

Schaudinn F. (1902). Studien über krankheitserregende Protozoen. I. *Cyclospora caryolytica* Schaud., der Erreger der perniciösen Enteritis des Maulwurfs. *Arb. K. Gesundheitsamte, 18*, 378.

Yakimoff W. L. (1935) Coccidiose beim Maulwurf *Z. Parasitenkunde*, 7, 443.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

INFESTAZIONE DA *GONGYLONEMA PULCHRUM* NELL'UOMO

A. ROSSI-ESPAGNET (*) e U. SALERA (**)

La presenza di *Gongylonema* nell'uomo è stata osservata per la prima volta da PANE (1864), che isolò il parassita da una rilevatezza della faccia interna del labbro superiore. A questa prima osservazione altre (ALESSANDRINI, BAYLIS, CRUZ e SIVALINGAM, FAUST e MARTINEZ, JOHNSTON, RANSOM, SCHULTZ e IVANITSKI, SLIVENSKI, STILES, STILES e BAKER, WAITE e CORRIE, WARD) ne sono seguite in diversi paesi (Italia, Stati Uniti, Russia, Nuova Zelanda, Bulgaria, Ceylon). Complessivamente sono stati descritti 16 casi, di cui 14 raccolti da CRAIG e FAUST in un loro recente lavoro; un 15° caso è stato descritto nel Marocco da GAND e CHABAUD e il 16° recentemente osservato da YOUNG e HAYNE in un negro della Carolina del Sud.

Questa parassitosi è stata anche da noi osservata in Roma in una bambina di 10 anni:

P. L., f., 10 a., scolara, residente in Roma in condizioni ambientali ed igieniche del tutto normali. Nell'agosto del 1951, essendo in stato di perfetto benessere, la paziente notò la comparsa di una papula della grandezza di un chicco di riso, in corrispondenza della faccia interna del labbro superiore, non dolente e modicamente pruriginosa. Dopo circa 2 giorni in corrispondenza della papula la bambina avvertì la presenza di un sottilissimo filamento e se ne liberò, gettandolo, nell'opinione che si trattasse di un corpo estraneo. Dopo altri 2 giorni la paziente provò la medesima sensazione in corrispondenza della stessa papula, che nel frattempo era divenuta più rossa e a superficie scabra, ed anche questa volta estrasse un sottile filamento biancastro, dotato di vivaci movimenti, che conservò e sottopose al nostro esame.

L'obbiettività riguardava esclusivamente la suddetta manifestazione papulosa, essendo per il resto completamente negativa.

Le varie indagini di laboratorio esperite non hanno messo in evidenza dati di interesse, ivi compreso l'esame ematologico dal quale è risultata un'eosinofilia del 3%. Strisci di sangue eseguiti durante il giorno e durante la notte non hanno dimostrato microfilarie.

(*) *Istituto di Clinica Medica Generale e Terapia Medica dell'Università di Roma* (Dir.: Prof. G. DI GUGLIELMO).

(**) *Istituto di Patologia Medica e Metodologia Medica dell'Università di Roma* (Dir.: Prof. L. CONDORELLI).

Il parassita da noi esaminato, un nematode biancastro filiforme, attenuato ad ambedue le estremità, presentava all'indagine microscopica i caratteri del genere *Gongylonema*. Riportiamo nella fig. 1 le estremità anteriore e posteriore del verme. Questa ultima permette di differenziare chiaramente il nostro esemplare femmina dal maschio provvisto di larghe ali caudali. Si tratta quindi di una femmina, sprovvista di uova, del genere *Gongylonema* che, per i caratteri morfologici, ci sentiamo autorizzati a classificare quale *Gongylonema pulchrum*.

La paziente seguita per i successivi 4 anni non ha dimostrato altri segni relativi a questa parassitosi nè ha eliminato altri parassiti.

Una univoca classificazione delle specie del genere *Gongylonema* (*Nematoda, Spiruridae*) osservate nell'uomo, non è stata ancora raggiunta. Tuttavia i vari AA. riferiscono per lo più alla specie *Gongylonema pulchrum* i parassiti da loro messi in evidenza. Si ritiene infatti che le specie *G. labiale* e *G. subtile* descritte rispettivamente da Alessandrini (1914) e da Pane (1864) siano assimilabili alla specie *G. pulchrum* (Molin 1857).

Fig. 1

Negli animali i Gongylonemi sono stati descritti in numerose specie di mammiferi; la loro scarsa specificità parassitaria ci rende ragione di come il parassita possa così diffusamente albergare ed essere anche reperibile nell'uomo

Ospiti definitivi ordinari sono il montone, la capra, la pecora, il bue, il

maiale e numerosi altri mammiferi, particolarmente le scimmie (*Macacus innus*: Baylis 1925), i quali si infestano per ingestione di vari insetti, aventi funzione di ospiti intermedi (alcune specie di coleotteri e un ortottero la *Blattella germanica*).

Negli animali mammiferi la localizzazione più frequente è la sottomucosa dell'esofago e dello stomaco, ove il parassita scava delle tortuose gallerie. Nell'uomo è stato reperito solo nella sottomucosa delle labbra e delle guance; non si esclude tuttavia che il parassita possa avere anche altre localizzazioni, sebbene, in ricerche sistematiche condotte in individui morti per affezioni le più diverse, Ghetti non sia mai riuscito a metterlo in evidenza.

Nell'uomo sono state in genere isolate delle femmine immature, ma la possibilità che queste giungano a maturazione apparentemente completa è stata messa in evidenza da Alessandrini e successivamente da Baylis. Pertanto l'uomo costituirebbe per il parassita un ospite accidentale favorevole.

Nel nostro caso (17° della letteratura e 3° osservato in Italia) furono eliminati due parassiti di cui il primo non fu portato alla nostra osservazione e pertanto non fu identificato, il secondo fu classificato come *G. pulchrum;* nel lungo periodo di osservazione successivo la paziente non si è accorta di averne eliminati altri esemplari.

Gli ospiti definitivi, ordinari o accidentali, si infestano ingerendo l'ospite intermedio parassitato dalle larve; ciò avviene anche nell'uomo ed è possibile che la nostra piccola paziente, nonostante le buone condizioni igienico-ambientali nelle quali viveva, abbia contratto la parassitosi attraverso cibi o bevande nei quali erano accidentalmente caduti insetti parassitati. La notevole diffusione di alcune specie di scarafaggi ospiti intermedi (*Blattella germanica, Blatta orientalis*) in alcune abitazioni della nostra città, soprattutto quelle di più antica costruzione, rende possibile questa ipotesi.

Dal punto di vista clinico è da sottolineare l'assenza di qualunque manifestazione generale, nè è stata riscontrata nel sangue periferico una eosinofilia particolarmente marcata.

Il caso ci è sembrato meritevole di segnalazione per l'estrema rarità di questa parassitosi, per le sue probabili modalità di diffusione, per l'assenza di manifestazioni cliniche. Richiamiamo inoltre l'attenzione sulla possibilità (Alessandrini) che negli animali, il parassita possa determinare, attraverso un meccanismo sconosciuto, l'insorgenza di neoplasie maligne.

RIASSUNTO

In una bambina di 10 a. è stata osservata la presenza, nella mucosa del labbro superiore, di due parassiti di cui l'uno è stato da noi esaminato e identificato come *Gongylonema pulchrum.* Nei successivi 4 anni, durante i quali la p. è stata da noi seguita, non è stata osservata l'eliminazione di altri parassiti. Sono discusse le probabili modalità di infestazione.

SUMMARY

The autors have observed in a ten years old girl, on the upper lip mucosa, two parasites, one of which has been identified as *G. pulchrum*. During the following four years no further elimination of parasites was observed. The authors discuss the probable mechanism of infestation.

BIBLIOGRAFIA

ALESSANDRINI G. (1914): Nuovo caso di parassitismo nell'uomo da *Gongylonema*. *Boll. R. Acc. Med. Roma*, *40*, 42.

ALESSANDRINI G. (1926): Parassitismo animale e tumori maligni. Lega it. per la lotta contro il cancro. Propaganda scientifica. Roma.

BAYLIS H. A. (1925): On the species of *Gongylonema* (Nematoda) parasitic in ruminants. *I. Compt. Path and Ther. 38*, 46.

BAYLYS H. A. (1925): On the identity of *Gongylonema subtile* Alessandrini. *J. Trop. Med. and Hyg. 38*, 36.

CRAIG C. F., FAUST E. C. (1951): Clinical Parasitology. Ed. 5, Lea & Febiger, Philadelphia, p. 393.

CRUSZ H., SIVALINGAM V. (1950): A note on the occurrence of *Gongylonema pulchrum* Molin 1857, in man in Ceylon. *J. Parasitol. 36*, 26.

FAUST E. C., MARTINEZ W. H. (1935): Note on helminths from Panama; II Rare human nematode eggs in the feces of individuals from the Chagres River Panama. *J. Parasitol., 21*, 332.

GAUD J., CHABAUD R. G. (1951): Présence du nématode *Gongylonema pulchrum* chez l'homme au Maroc. *Bull. Soc. Path. Exot., 44*, 62.

GHETTI G. (1925): A proposito del *Gongylonema neoplasticum*, ricerche nello stomaco umano. *Pathologica*, *17*, 1.

JOHNSTON T. H. (1936): Remarks on the nematode *Gongylonema pulchrum*. *Trans. Roy. S. Australia*, *70*, 76.

JOHNSTON T. H. (1936): A note on the occurrence of the nematode *Gongylonema pulchrum* in man in New Zeland. *New Zeland Med. J. 35*, 172.

PANE C. (1864): Nota sopra un elminta nematode. *Ann. Accad. Naturalist.* Napoli, *4*, 32.

RANSOM B. H. (1923): A new case of *Gongylonema* from man. *J. Parasitol*, *9*, 244.

SCHULTZ R. E. S., IVANITSKI S. V. (1934): Gongylonematosis in man with a description of a new case. *Med. Parasit. and Parasitic Diseases*, *3*, 516.

SLIWENSKI M. (1941): Drei Fälle von *Gongylonema pulchrum* bei Erwachsenen in Bulgarien. *Deutsch. Trop. Zeitscr., 45*, 712.

STILES C. W. (1918): *Gongylonema* in man. *Ann. Rep. of. Surg. Gen. of. the Public Healt Service*, *64*.

STILES C. W. (1920): A second case of *Gongylonema* in man *J. Parasitol*, *6*, 200.

STILES C. W. (1921): *Gongylonema hominis* in man. *J. Parasitol*, 7, 197.

STILES C. W., BAKER C. E. (1928): A fifth case of *Gongylonema hominis* in man in the United States. *J. Parasitol. 15*, 221.

WAITE C. H., CORRIE R. A. (1935): *Gongylonema* infestation in man. *J. An. Med. Ass. 105*, 23.

WARD H. B. (1916): *Gongylonema* on the role of human parasite. *J. Parasitol 2*, 119.

YOUNG M. D., HAYNE I. (1953): *Gongylonema* infection in South Carolina. *J. Am. Med. Ass., 151*, 40.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

PRIMI RISULTATI DEL FRAZIONAMENTO ELETTROFORETICO DI ESTRATTI PROTEICI DI ORGANISMI PARASSITARI

A. ROSSI-ESPAGNET (*) e M. CAPONE (*)

Un campo di grande interesse sia da un punto di vista semplicemente speculativo che pratico è quello riguardante il frazionamento elettroforetico degli estratti proteici di parassiti: da un punto di vista speculativo in quanto nulla o assai poco sappiamo sulla loro costituzione proteica, pratico in quanto è possibile con questo metodo ottenere frazioni dotate di buona capacità antigene come per esempio le frazioni a rapida velocità di migrazione isolate da Portwood e Sanders (8) da estratti proteici di *Trichinella spiralis*.

La composizione chimica dei vari parassiti è stata studiata da numerosi AA. alcuni dei quali, nell'ambito delle loro ricerche, hanno determinato il contenuto di azoto proteico in % di sostanza secca di vari parassiti. Ricordiamo le ricerche condotte sulla *Fasciola epatica* da Weinland e von Brand (19), sul *Cysticercus fasciolaris* da Salisbury e Andersen (12), sulla *Taenia saginata* da Smorodinzev e Coll. (16), sulla *Taenia solium* (13) e sul *Diphyllobothrium latum* da Smorodinzev e Bebeskin (14) sull'*Ascaris lumbricoides* da Weinland (18), da Flury (3) e da Smorodinzev e Bebeskin (15). Oltre alla determinazione dell'azoto proteico sono state isolate varie frazioni proteiche dai corpi di vari parassiti così dal *Diphyllobothrium latum* da Faust e Tallqvist (2), dalla *Taenia saginata* da Smorodinzev e Pawlowa (17), da Kent e Macheboeuf (5, 6, 7), nell'*Ascaris lumbricoides* da Flury (3). Questo ultimo autore e Yoshimura (20) hanno isolato dall'*Ascaris lumbricoides* vari aminoacidi. Un completo studio sulla composizione della *Moniezia expansa* dobbiamo a Kent (4); egli fra l'altro ha isolato elettroforeticamente da estratti di parassiti due frazioni proteiche omogenee che ha denominato baerine e moniezine.

Le prime applicazioni delle metodiche elettroforetiche a questo campo di ricerche le dobbiamo a Portwood e Sanders (8). Questi AA. hanno estratto

(*) *Istituto di Clinica Medica Generale e Terapia Medica dell'Università di Roma* (Dirett.: Prof. G. Di Guglielmo).

con soluzione fisiologica larve di *Trichinella spiralis* ed hanno esaminato elettroforeticamente l'estratto ottenuto sia direttamente sia dopo acidificazione con ac. cloridrico 0,2/N, sia dopo riscaldamento a 56°C per un'ora. Ciascuna di queste 3 preparazioni si separò in 3 bande ben definite oltre ad una banda incompletamente separata ed associata con la frazione 2 e ad una componente eterogenea a rapida velocità di migrazione. Questi AA. hanno iniettato intradermo gli estratti ad animali sensibilizzati ed hanno misurato la zona di reazione: esse ritengono che l'allergene sia legato alla frazione 1.

Ultimamente Cmelik e Briski (1) hanno studiato elettroforeticamente le frazioni proteiche ottenibili dalla *Taenia echinococcus*.

Dato il grande interesse di questi studi stupisce la scarsezza dei contributi esistenti in letteratura. Indubbiamente anche questo campo di ricerche potrà essere ampiamente indagato con la tecnica dell'elettroforesi su carta che, oltre ad essere di semplicissima esecuzione, ha il vantaggio di richiedere scarsa quantità di materiale da esaminare, rivela minime quantità di sostanza proteica e dà per lo più una netta differenziazione delle varie frazioni.

Abbiamo finora esaminato mediante la metodica elettroforetica estratti proteici ottenuti da *Parascaris equorum, Taenia saginata,* membrana proligera di cisti d'echinococco, *Cysticercus bovis.*

Per il *Parascaris equorum* abbiamo studiato la composizione proteica del liquido celomatico e di estratti proteici preparati con lo strato cuticolare, muscolare e con gli organi dell'apparato digerente e genitale.

Per la preparazione degli estratti proteici e per il loro studio elettroforetico ci siamo serviti delle seguenti metodiche. Il materiale in esame è stato prima rapidamente lavato con acqua distillata allo scopo di eliminare eventuali impurità esistenti; la quantità di proteine estratte dal liquido di lavaggio è minima. Eliminato quest'ultimo il materiale, asciugato con carta bibula, viene mantenuto alla temperatura di —20C° per circa 6 ore e poi rapidamente riportato a temperatura ambiente al fine di ottenere una buona rottura degli elementi cellulari. Il materiale è stato poi pesato, posto in un mortaio con sabbia di quarzo e pestato per qualche minuto. Dopo una prima triturazione è stato aggiunto il liquido d'estrazione (tampone di Michaelis al veronal-acetato Ph 8,6) in peso doppio a quello del materiale; si tritura ancora per 15 minuti e si lascia quindi alla temperatura di 4 C° per 45 minuti agitando ogni 5 minuti. Dopo una rapida centrifugazione a circa 3000 giri, necessaria ad eliminare la sabbia di quarzo ed i frammenti più grossolani, il liquido sovrastante viene separato e sottoposto a nuova centrifugazione a 13.000 giri per 20 minuti. Il liquido limpido sovrastante, previo allontanamento dello strato di grasso che generalmente si forma in superficie, è pronto per l'elettroforesi per la quale abbiamo impiegato la tecnica di Grassmann ed Hanning e lo stesso tampone utilizzato per l'estrazione.

Riferiamo ora brevemente sul comportamento elettroforetico degli estratti da noi ottenuti:

Parascaris equorum:

a) liquido celomatico: è costituito da 5 frazioni che abbiamo denominato con i numeri arabi da 1 a 5 a partire dalla frazione a maggiore velocità di migrazione; le rispettive bande sono apparse sempre ben individualizzate e dotate di motilità approssimativamente corrispondente a quella delle frazioni proteiche del siero. La frazione 2, la più cospicua per contenuto proteico, è abbastanza omogenea e si presenta in parte fusa con la frazione 1; le frazioni 3 e

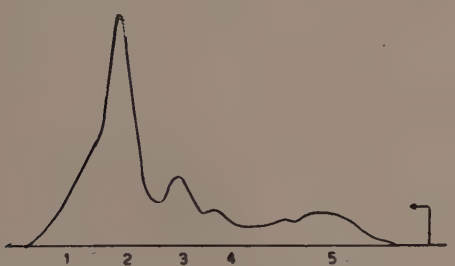

Fig. 1

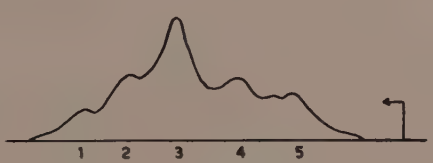

Fig. 2

4 appaiono quantitativamente scarse, a banda stretta e pertanto a costituzione omogenea; la banda 5 è dotata di scarsissima mobilità e si presenta molto allargata (Fig. 1).

b) cuticola: è costituita da 5 frazioni elettroforetiche nettamente separate fra loro. Di esse la frazione 1, a più rapida velocità di migrazione, è apparsa la più scarsa, mentre la frazione 3 è la più ricca (Fig. 2).

c) strato muscolare: è costituito da 4 frazioni che si equivalgono pressochè dal punto di vista quantitativo. La frazione 4 è costituita da elementi macromicellari completamente privi di mobilità elettroforetica (Fig. 3).

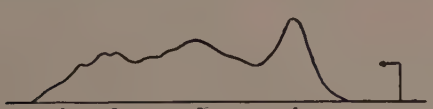

Fig. 3

Fig. 4

d) organi degli apparati digerente e riproduttivo: gli estratti hanno presentato un comportamento quasi identico; i ferogrammi di ambedue gli estratti risultano costituiti da una grossa banda a rapida mobilità fortemente inomogenea e probabilmente costituita da diverse sottofrazioni la cui incompleta risoluzione non ne permette una individuazione precisa. Sulla linea di partenza esiste inoltre una grossa banda costituita da elementi privi di mobilità elettroforetica (Fig. 4 e 5).

Gli estratti proteici ottenuti dai vari organi del *Parascaris equorum* hanno presentato aspetti diversi e caratteristici. Particolarmente complessa si è di-

mostrata la composizione proteica del liquido celomatico e dello strato cuticulare. Analoghe ricerche su estratti proteici di *Ascaris lumbricoides* sono in corso anche allo scopo di stabilire se esistano differenze costitutive legate alla specie.

Cisti d'echinococco. Membrana proligera: l'estratto da essa preparato, a scarsa concentrazione proteica, si è suddiviso elettroforeticamente in 3 differenti frazioni delle quali la 1 e la 2 hanno presentato una scarsa velocità di migrazione mentre la 3 se ne è dimostrata completamente priva (Fig. 6).

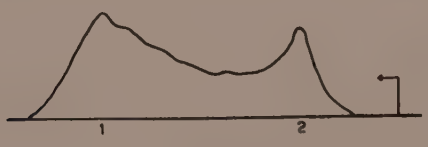

Fig. 5

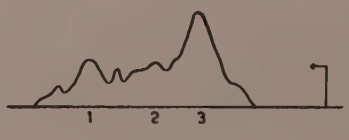

Fig. 6

Taenia saginata: l'esame elettroforetico ha dimostrato la presenza di 4 bande, delle quali 3, addossate l'una all'altra e scarsamente individualizzate, sono nettamente separate dalla quarta a scarsissima velocità di migrazione e prossima alla linea di partenza del tracciato (Fig. 7).

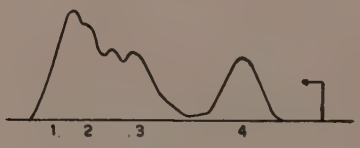

Fig. 7

Cysticercus bovis: gli estratti da questo ottenuti non hanno per ora fornito risultati attendibili per la presenza di un'altissima quota emoglobinica.

Dall'esame complessivo dei diversi estratti si deduce che la composizione proteica differisce per i vari parassiti e che in uno stesso parassita esiste una specificità costitutiva per i vari organi.

Lo studio di questi estratti proteici mediante le metodiche elettroforetiche non si esaurisce nella semplice caratterizzazione elettroforetica delle singole frazioni per i vari parassiti, ma costituisce una base ad ulteriori ricerche tendenti all'isolamento, mediante l'associazione dei metodi di eluizione, di frazioni proteiche pure, alla caratterizzazione del loro potere antigene e al loro eventuale impiego a scopo diagnostico in clinica.

Queste ricerche, suscettibili di ulteriori sviluppi in campo sperimentale, si affiancano a quelle da noi già da tempo intraprese sulle modificazioni sieroproteiche che si determinano, in conseguenza di una parassitosi, nell'organismo ospite (9, 10, 11).

RIASSUNTO

Dopo un rapido esame dei pochi dati esistenti in letteratura sull'argomento, sono riferiti i risultati ottenuti con il frazionamento elettroforetico di estratti proteici di *Parascaris equorum*, *Taenia saginata*, cisti d'echinococco, *Cysticercus bovis*. E' sottolineata l'importanza pratica, oltre che teorica, di queste ricerche.

SUMMARY

After a brief review of the few data from the literature on this subject the authors expose their results from electrophoretic fractionation of protein extracts of *Parascaris equorum*, *Taenia saginata*, Echinococcus cysts,*Cysticercus bovis*. Practical and theoretical importance of this research is underlined.

BIBLIOGRAFIA

(1) Cmelik S., Briski B. (1953): *Biochem. Z. 324*, 104.
(2) Faust E. C., Tallqvist T. W. (1907): *Arch Exper. Path Pharmakol., 57*, 367.
(3) Flury F. (1912): *Arch. Exper. Path. Pharmakol., 67*, 275.
(4) Kent F. N. (1947): *Bull. Soc. Neuchateloise Sc. Nat. 70*, 85.
(5) Kent F. N., Macheboeuf M. (1947): *C. R. Soc. Biol. 225*, 539.
(6) Kent F. N., Macheboeuf M. (1947): *C. R. Soc. Biol. 225*, 602.
(7) Kent F. N., Macheboeuf M. (1947): *Schweiz. Z. Path. u. Bakt. 10*, 464.
(8) Portwood L. M., Sanders E. (1946): *Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 62*, 165.
(9) Rossi-Espagnet A., Capone M. (1955): *Agg. Mal. Inf.* in pubblicazione.
(10) Rossi-Espagnet A., Capone M. (1955): *Agg. Mal. Inf.* in pubblicazione.
(11) Rossi-Espagnet A., Capone M., Marinoni G. F. (1955): *Agg. Mal. Inf., 1*, 173.
(12) Salisbury L. F., Anderson R. J. (1939): *J. Biol. Chem. 129*, 505.
(13) Smorodinzev J. A., Bebeshin K. W. (1936): *J. Biochem. 23*, 19.
(14) Smorodinzev J. A., Bebeshin K. W. (1936): *J. Biochem. 23*, 21.
(15) Smorodinzev J. A., Bebeshin K. W. (1946): *C. R. Acad. Sc. U.R.S.S., 2*, 189.
(16) Smorodinzev J. A., Bebeshin K. W., Pawlowa P. I. (1933): *Bioch. Z. 261*, 73.
(17) Smorodinzev J. A., Pawlowa P. I. (1936): *Ann. Parasitol. Humaine et Comp. 14*, 489.
(18) Weinland E. (1901): *Z. Biol. 42*, 55.
(19) Weinland E., von Brand T. (1926): *Z. Vergleich. Physiol. 4*, 212.
(20) Yoshimura S. (1930): *J. Biochem. Japan 12*, 27.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

PRESENZA DEL «*SIMULIUM DAMNOSUM*» NELLA ZONA DEL MEDIO UEBI SCEBELI

EGIDIO LIPPARONI (*)

Nei vari Ospedali ed Ambulatori della Somalia non è stato accertato sino ad oggi alcun caso di oncocercosi. Falcone, che per anni ha svolto in Somalia la specialità oculistica, su 16.836 pazienti autoctoni esaminati e su 3.000 casi circa di cecità da cause svariate, non ha osservato alcun caso di oncocercosi oculare. Ciò spiega in certo qual modo come sia mancato in passato l'interessamento alla ricerca del vettore ed al rilievo del suo «habitat» locale. Per quanto è a mia conoscenza non esistono pubblicazioni, che segnalino la presenza del *S. damnosum* in Somalia. Nella recentissima e molto accurata monografia «Simulidae of the Ethiopian Region» pubblicata nel 1953 da P. Freeman e B. de Meillon non si accenna neppure alla presenza di Simulidi in questo territorio.

Circa la metà del 1954 Giaquinto Mira, della «Section of Endemo-Epidemics Diseases - O.M.S. - Ginevra» e Segretario della Conferenza Africana sulla Oncocercosi che doveva poi tenersi nel Congo, anche in previsione di tale Congresso, avanzò all'Ispettorato della Sanità della Somalia (Zuretti) l'opportunità di un'indagine epidemiologica adeguata e di ricerche sui Simulidi nel territorio. Da Zuretti, che nel trattempo svolgeva un'accurata esplorazione epidemiologica nei villaggi rivieraschi lungo il Giuba e l'Uebi Scebeli (ed a mia volta in collegamento con Giaquinto-Mira) ebbi l'invito ad interessarmi alla ricerca dei Simulidi e di *S. damnosum* in particolare, nella zona del Medio Uebi Scebeli.

Con semplici metodi di cattura improvvisati nelle abitazioni di europei e nativi, nei luoghi di ritrovo e sulla veranda dell'Ospedale, ed addestrando il personale addetto alla lotta anti-anofelica ed alla lotta contro l'*Aëdes* alla cat-

---

(*) *Ospedale «A. Cecchi» della Società Agricola Italo Somala (Villaggio Duca degli Abruzzi - Somalia).*

tura di giorno di svariati piccoli insetti lungo i canali e lungo le rive del fiume, potei raccogliere ed esaminare un ricco materiale.

Agli ultimi di Agosto 1954, nel materiale raccolto rilevai un esemplare dalle caratteristiche morfologiche di un simulide e più precisamente del *S. damnosum*. Trasmisi l'esemplare con altri insetti (fra questi risultò presente fra l'altro una specie di importanza parassitologica, appartenente alla famiglia delle *Ceratopogoninae*) al Prof. Giaquinto-Mira a Ginevra, che confermò trattarsi di un esemplare di *S. damnosum*.

Giaquinto-Mira, anche in rappresentanza dell'A.F.I.S., poteva in successione di tempo segnalare alla Conferenza Africana sulla Oncocercosi, tenutasi a Leopoldville, la presenza di *S. damnosum* in Somalia e nel contempo, basandosi anche sui risultati dell'indagine epidemiologica di Zuretti, l'assenza dell'oncocercosi nel territorio.

Nei mesi che si sono susseguiti, continuando le ricerche sino a tutto il periodo di secca, ho potuto raccogliere numerosi esemplari di *S. damnosum* e fissare nel contempo le caratteristiche ecologiche locali e talune caratteristiche biologiche di tale vettore in questo ambiente.

SIMULIDI: (In inglese « buffalo gnats », o « black flies », o « turkey gnats »; in portoghese « borrachudos », o « pium »; nel dialetto somalo locale « ghelmi », od anche «bahal», nome esteso però a svariati piccoli insetti ad accertata, o presunta, attività ematofaga). Com'è noto i Simulidi, dell'Ordine dei Ditteri - Sotto-Ordine Nematocera, famiglia Simulidae,, sono piccoli insetti (da 1 a 5 mm. di lunghezza a seconda della specie). La testa piccola è poco appariscente ed appare nascosta sotto il torace gibboso. Antenne robuste formate da 12 articoli. Nel maschio gli occhi sono prominenti, olottici, mentre nella femmina sono piccoli e nettamente separati. La tromba è breve ed a palpi lunghi, quadriarticolati. Le femmine sono avidissime di sangue. L'apparato succhiatore del maschio è invece rudimentale, o del tutto mancante. Caratteristica è la prominenza della gobba toracica, dovuta al marcato sviluppo dello « scutum » ed alla ridotta dimensione del « prescutum ». Le ali sono grandi ed ampie; la 1ª e la 2ª nervatura longitudinale sono molto marcate, le altre sono sottili e la 2ª e la 4ª nervatura longitudinale si dicotomizzano all'estremità. La 5ª nervatura è semplice. Le zampe sono corte e forti.

Le ghiandole salivari dei Simulidi secernono sostanze più o meno tossiche ed in talune specie un vero e proprio veleno, se si considerano i gravi fenomeni di avvelenamento, che talvolta essi determinano. Negli animali possono causare talvolta gravi perdite di sangue ed imponenti fenomeni anafilattici. Può derivarne perfino la morte per edema polmonare. Le femmine depongono le uova in masse gelatinose di 300-500 sopra una foglia di pianta acquatica sommersa. Lo sviluppo della larva dall'uovo può avvenire solamente in acque correnti e ben aereate. Le larve, a mezzo delle ventose posteriori, si fissano alle piante acquatiche ed alle pietre sommerse, o appena affioranti. Lo sviluppo dall'uovo all'adulto richiede circa un mese nei climi temperati: è verosimilmente molto più breve nelle zone tropicali.

SIMULIUM DAMNOSUM

E' conosciuto come « jinij fly » in Uganda, « fourou » nel Congo francese, « Kilteb » nel Sudan, « mosquito negrito », od anche « alazan », in altri territori dell'Africa. Come abbiamo già visto lungo il Medio Uebi Scebeli è denominato « ghelmi » (altri piccoli ditteri ad attività ematofaga verso l'uomo ed il bestiame sono denominati rispet-

tivamente « madaggal » e « addaadde »). Gli esemplari raccolti nella zona del Medio Uebi Scebeli presentano naturalmente i caratteri morfologici tipici della specie. Sono di colorito nerastro. Hanno il torace ricoperto di peli dorati. La lunghezza è in media di 3 mm.; i tarsi anteriori sono dilatati; i metatarsi posteriori anellati di giallastro; le unghie sono dentate. L'addome è ricoperto di peli neri. A Leopoldville lo stadio larvale di *S. damnosum* dura 5 giorni, ma, a seconda della temperatura, può essere anche più breve, o più lungo: lo stadio di pupa dura circa 4 giorni. *S. damnosum* si riproduce principalmente nelle rapide dei corsi d'acqua a grande portata, ma le sue larve si possono trovare ugualmente nelle acque a corrente regolare la cui velocità non supera 2 Km orari. A Leopoldville i Simulidi non ricercano le acque che scorrono a più di 4,5 km all'ora. Si suppone anche che nelle zone in cui i corsi d'acqua vanno in secca durante un periodo dell'anno le uova possano sopravvivere e non schiudersi che dopo la stagione secca. Si ritiene che specie nei climi caldi e durante i periodi di secca, la forma adulta di questa specie non sia molto longeva. *S. damnosum*, specie se sospinto da venti favorevoli, può allontanarsi in volo e migrare dall'area di riproduzione per un raggio di 40 Km. e probabilmente molto di più. In svariate regioni tale specie punge sopra tutto l'uomo, ma può attaccarsi ugualmente a diversi animali. Talune varietà sono antropofile. In altre regioni della stessa Africa *S. damnosum* non punge l'uomo: ne esistono pertanto anche varietà zoofile.

Condizioni ecologiche locali

L'Uebi Scebeli scorre pensile per una gran parte del percorso; in gennaio-febbraio va in morbida e poi in magra in marzo-aprile con formazione di raccolte di acque stagnanti, o lentamente correnti, nel suo letto a fondo uniformemente sabbioso. (Il Giuba, altro importante fiume della Somalia, da gennaio ad aprile cade solo in morbida). La velocità della corrente del fiume nei periodi di piena si aggira sui 4 Km. all'ora, mentre durante il periodo di morbida discende a circa 2 Km. all'ora. Da misurazioni eseguite nel 1935 risulta che la velocità media dai periodi di piena al periodo di morbida compreso corrisponde a Km. 2,628 all'ora. Nel letto del fiume rarissimi sono gli affioramenti del tavolato roccioso somalo: la vegetazione manca del tutto lungo l'alveo del fiume, mentre rigogliosissima si sviluppa sulle rive, specie nelle golene (dove l'acqua durante la piena rimane quasi immobile e sedimenta) e nelle stesse zone allagate (« descek ») dal fiume in piena. D'altra parte la vegetazione erbacea delle rive, pur rimanendo a queste abbarbicata, ricade per vari tratti nella corrente fluviale e ne rimane travolta e più, o meno, sommersa. Ciò si avvera anche nei canali. Non esistono lungo il corso del fiume cascate (se si eccettui la diga di sbarramento del Comprensorio), nè rapide. Nella zona esiste una lunga rete di canali (Comprensorio irriguo della SAIS), una parte dei quali è ricca (canale di scolo, etc.) di vegetazione erbacea anche nel fondo. Una rete di canali di minore importanza e priva, o quasi, di manutenzione e ricchissima quindi di vegetazione erbacea, è mantenuta dai nativi. I canali vanno completamente in secca durante il periodo di magra dell'Uebi Scebeli. Ciò non accade per i canali dei Comprensori irrigui alimentati dal Giuba.

Le medie mensili dell'umidità relative si aggirano sull'80% nei mesi di

maggio, giugno, luglio, ottobre, novembre; oscillano dal 60% al 68% nei mesi di secca (gennaio, febbraio, marzo).

Le medie mensili della temperatura da un minimo di 24° nel mese di luglio, salgono a 28° nel mese di aprile. La media decennale delle precipitazioni è di 470 mm. annui. Il fiume presenta due piene stagionali: una dal mese di maggio al mese di giugno; l'altra dal 20 agosto circa a tutto novembre, od anche ai primi di dicembre. Le precipitazioni atmosferiche cadono nei periodi intermonsonici: da aprile a tutto maggio quelle di «gu»; da ottobre alla prima quindicina di dicembre quelle di «der». I due periodi di pioggia sono intramezzati da giugno a tutto settembre dal periodo delle «hagai» (piovaschi di scarsa entità, monsone di SW, secca relativa) e dalla metà di dicembre alla metà di aprile dal periodo del «gilal» (precipitazioni eccezionali, scarsissime; secca assoluta; monsone di NE).

E' noto che dove le condizioni ecologiche sono ideali per lo sviluppo, i Simulidi abbondano, più o meno, per tutto l'anno. Tali non sono affatto quelle della zona del Medio Uebi Scebeli. Da quel che ho potuto osservare tramite le catture e da quanto ho potuto dedurre dall'esame dell'ambiente, ritengo che in questa zona l'attività riproduttiva e quindi ematofaga di *S. damnosum* siano massime (sempre in rapporto al locale «habitat») nei due periodi di pioggia e di piena del fiume («gu» e «der») si riducano sensibilmente nei periodi di secca relativa da giugno a settembre («hagai»), si interrompano del tutto durante i periodi di secca («gilal») e cioè dalla fine di dicembre a quasi tutto aprile. Non mi è stato possibile accertare come *S. damnosum* riesca a sopravvivere durante la stagione secca. In conclusione la densità di *S. damnosum* nella zona del Medio Uebi Scebeli, pur essendo di un certo rilievo durante taluni periodi dell'anno, non è affatto marcata.

Considerazioni epidemiologiche

L'accertata presenza del vettore della oncocercosi in Somalia, dove non è stato fino ad ora riscontrato alcun caso della malattia, avvalora il concetto che in Africa l'area di distribuzione geografica e di dispersione del *S. damnosum* sia molto più estesa dell'area in cui l'oncocercosi risulta endemica. Sono già state segnalate in Africa zone varie indenni, nonostante la presenza del vettore. Lo stesso Giaquinto-Mira, che in Etiopia aveva studiato e segnalato aree endemiche di oncocercosi, aveva poi rilevato che l'Eritrea ed altre zone della stessa Etiopia ne erano indenni, nonostante l'accertata presenza del vettore anche in questi altri territori. Tale fenomeno può avere varie spiegazioni. Per esempio:

1° - esistono varietà di *S. damnosum* ad esclusiva, o quanto meno prevalente, attività zoofila;

2° - la densità del vettore può essere insufficiente;

3° - talune condizioni d'ambiente non consentono la trasmissione della malattia (brevità della vita del vettore nelle regioni a clima caldo e secco, etc.).

Manca per la varietà esistente in questa zona la prova sperimentale della sua attività antropofila. Nè ho potuto stabilire se il sangue succhiato da taluni esemplari catturati (naturalmente femmine), che avevano punto, era sangue umano.

D'altra parte rilievi indiretti inducono a ritenere che la varietà locale punga l'uomo. I nativi ritengono che i « ghelmi » pungano l'uomo e gli animali: asseriscono persino che prediligono pungere nell'interno dei padiglioni auricolari. La densità del vettore è indubbiamente scarsa nella zona, specie in taluni periodi dell'anno. Le caratteristiche ecologiche locali non appaiono affatto ideali per il più marcato sviluppo di *S. damnosum*. D'altra parte lungo il Giuba sussistono condizioni ecologiche tali da poter determinare una più accentuata densità del vettore.

Ma è anche possibile che in questo ambiente il vettore non abbia avuto l'occasione di entrare in contatto con portatori di microfilarie di oncocerche. Se tale contatto si stabilisse — tramite aumentati traffici, nomadismo, etc. — fra zone endemiche e non endemiche potrebbe ovviamente derivarne possibilità di trasmissione. Di ciò si deve tener conto per la Somalia, data la relativa vicinanza dell'Alto Giuba in specie (Lugh Ferrandi, etc.) con talune zone endemiche dell'Etiopia. E' infine da tener presente che qualora l'attuazione dei piani di sviluppo economico per la Somalia comportassero in un futuro più o meno remoto la costruzione di opere idrauliche di sbarramento lungo i fiumi, onde creare bacini con l'intento di eliminare i periodi di magra, e di morbida dei fiumi e di sviluppare altri Comprensori irrigui, le condizioni ecologiche, in riferimento ad un più marcato sviluppo dei Simulidi, potrebbero risultarne notevolmente modificate. Pertanto nonostante l'assenza dell'oncocercosi dal territorio, appaiono raccomandabili le più estese ed approfondite ricerche sul ciclo biologico del vettore e la più oculata vigilanza per ostacolare i rapporti con le zone endemiche dell'Etiopia e prevenire quindi le possibilità di trasmissione.

RINGRAZIAMENTI:

Ringrazia vivamente il Prof. M. GIAQUINTO-MIRA dell'O.M.S. — Section of Endemo-epidemics Diseases — ed il Dr. S. ZURETTI, Ispettore della Sanità della Somalia.

RIASSUNTO

L'A., premesso che la Somalia è indenne da oncocercosi, come confermato recentemente da una indagine epidemiologica nel Territorio, illustra le circostanze che lo hanno condotto ad accertare la presenza nella zona del Medio Uebi Scebeli di *S. damnosum*, principale vettore in Africa di tale malattia. Descritte le condizioni ecologiche locali, espone le considerazioni epidemiologiche che emergono da tale accertamento e mette in rilievo come, mentre l'intensità del vettore non è rilevante, la sua attività antropofila, oltre quella zoofila, appare conservata. Approfondite e più estese ricerche ed una oculata vigilanza gli sembrano auspicabili.

SUMMARY

As confirmed by a recent survey, the territory of Somaliland is free of onchocercosis. The author points out to the circumstances which have led him to carry out a survey in the region of the Middle Uebi Scebeli on *S. damnosum*, main vector of the disease in Africa. The author describes the local ecological conditions and brings forward some epidemiological considerations derived from such a survey. While the density of the vector's population is not high, its anthropophilic and zoophilic activities seem to be conserved. The author suggests more extensive surveys and an accurate vigilance.

BIBLIOGRAFIA

FALCONE G. (1954): La distrofia corneale dei tropici. — *Rivista italiana del tracoma e di patologia oculare virale ed esotica — VI, I.*

FREEMAN P. et B. DE MEILLON (1953): Simulidae of Ethiopian Region — O.M.S.

NEVEU-LEMAIRE M. (1938): Traité d'entomologie mèdicale et vétérinaire — Vigot, Paris.

RIDLEY H. (1954): Ocular onchocerciasis — *British Journal of Optalmology — Monograph Supplement X.*

WHO (1954): Onchocerchiasis 22/30 January.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

THE SUSCEPTIBILITY OF BODY LOUSE TO DDT IN GREECE (*)

GREGORY LIVADAS (**) and IOANNIS PETRIDES (***)

This work comprises a series of tests made for determining the susceptibility of body louse (*Pediculus humanus corporis*) in Greece.

The entomological material used for the above tests had been collected during an investigation carried out between May 1954 and April 1955 in 62 rural settlements pertaining to 7 prefectures (****), as well as in some Athens asylums frequented by vagrants. A total of 55 man-days, excluding travel days spent somentimes over mule paths, were required for this investigation, and the total number of insects collected amounted to 1.171, of which 277 in asylums.

The above investigation revealed that even in the most, backward rural settlements body lice very infrequently occur, if at all. This should be accounted for by the improvement brought about during recent years in general living conditions in rural areas, and, in large measure, by the extended house DDT-spray carried out for malaria control purposes.

Technique Used

In making the above tests, we used the material contained in special kits, which was kindly supplied to us by the appropriate Section of the W.H.O., and followed the technique recommended by the latter, so as to make our results comparable to those from tests conducted, under the auspices of said Section, on the same subject in other countries.

Each of the above kit contains the following material:

(*) This work was made possible through the assistance of the Ministry of Social Welfare and the Directors of P. Health Centers of the surveyed areas, as well as of the Entomological Laboratory Assistant Mr. K. Thymakis.

(**) *Professor of Malariology and Tropical Diseases, Athens Sschool of Hygiene.*

(***) *Entomological Laboratory Assistant, Malaria Division, Athens School of Hygiene.*

(****) Surveyed prefectures are those of: Attica, Larissa, Iannina, Thesprotia, Preveza, Arta and Drama.

1) Six envelopes with DDT powder at the rate of 0,1%, 0,5%, 1% and 5%, Gamma BHC 0,25% and 0,5% and pyrethrines 0,04%.

2) 50 pieces of woolen cloth, 1/6 sq.foot.

3) 1 pair of forceps.

The piece of woolen cloth used for the test is fastened with small nails or thumbtacks to a piece of wood or cork or cardboard, and then sprinkled with the insecticide powder contained, in prescribed quantity, in each envelope. The powder is then spread uniformly over the entire surface of the cloth by means of a spatula or small knife, which is carefully cleaned with acetone after each application. On the piece of cloth so prepared are placed, with a pair of forceps, 10-20 insects, recently bred, out of those collected on lousy individuals. The cloth is then covered by a Petri dish well adjusted to the underlying wood or cardboard with adhesive band, so as to prevent the escape of lice. The insect are kept in a dark room at 25°C approximately and about 60% relative humidity.

After 24 hours, the condition of the insects exposed to the insecticide and of the controls is ascertained. The sorting of the findings is done as follows: Insects in complete immobility are characterized as dead, those with evidently incapable of co-ordinated moviments are considered as affected by the insecticide and those presenting a normality of movements as normal.

TABLE 1.

Origin of insects used	No of observations	Lice exposed to 0,1% DDT powder							Controls		
		Total No of tested lice	Dead		Affected		Normal		Total No of lice used	Dead	
			No	%	No	%	No	%		No	%
Prefecture of Attica (*) .	13	481	426	88,6	32	6,7	23	4,7	288	29	10,0
» » Iannina . .	9	247	187	75,7	39	15,8	21	8,5	93	6	6,5
» » Thespotia . .	6	15	13	86,7	2	13,3	—	—	—	—	—
» » Preveza . .	3	25	25	100,0	—	—	—	—	—	—	—
TOTAL. . .	31	768	651	84,9	73	9,5	44	5,7	381	35	9,2

(*) Prefecture of Attica figures contain also insects collected in various asylums.

The pieces of cloth prepared for the test can, according to the instructions furnished, be used three times, all precautions being of course taken to avoid loss of the insecticide during the successive tests.

In this case, owing to the small number of insects collected, the pieces of cloth were used only once. For the same reason, the test was confined to DDT. In the field, the tests were made in spaces prepared in an offhand manner, and those concerning insects collected in Athens asylums were made in the Entomological Laboratory of the Athens School of Hygiene.

Results

As shown on table I, of a total number of 714 insects tested with 0,1% DDT powder, after 24 hours there were found 651 (84,9%) dead, affected 73 (9,5%) and 44 (5,7%) normal. In the case of controls mortality amounted to 9,2%.

Of 22 insects tested with a larger dose of DDT (0,5%), 21 were found dead and 1 affected.

From the above it is clearly indicated that the ordinary doses of DDT have a satisfactory effect on the body louse in Greece and that no development of resistance has therefore been observed of said insect to DDT.

SUMMARY

From an investigation made in 62 rural settlements of Greece and in some of the Athens asylums, the following conclusions were drawn: 1) Even in the most backward rural settlements of the country, the body louse does not occur frequently, if at all, 2) no development of resistance by that insect to DDT was observed.

RIASSUNTO

Da un'investigazione eseguita in 62 centri rurali della Grecia ed in alcuni ospizi di Atene, sono state raggiunte le seguenti conclusioni: 1) Anche nei centri rurali meno progrediti del paese, i pidocchi sono poco frequenti o del tutto assenti, 2) non è stato osservato alcun inizio di resistenza da parte di questo insetto verso il DDT.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

ATTIVITA' DELLA COLINESTERASI IN CEPPI SENSIBILI E IN CEPPI RESISTENTI AL DDT DI *MUSCA DOMESTICA L.* (*)

NORA FRONTALI (**)

Introduzione

Negli studi sul meccanismo dell'azione insetticida del DDT ricorre frequentemente l'ipotesi che questa sostanza interferisca in qualche modo con i processi della trasmissione nervosa negli insetti. Che i meccanismi chimici che sono alla base del fenomeno della conduzione nervosa si svolgano negli insetti sostanzialmente nello stesso modo che nei vertebrati, è una questione a cui oggi ancora non si può dare una risposta; è certo comunque che il tessuto nervoso degli insetti possiede una forte attività colinesterasica (dimostrata per la prima volta da Corteggiani e Serfati nel 1939 (1)), che è essenziale per il normale svolgimento della conduzione nervosa (2, 3). Particolarmente elevata è l'attività colinesterasica della testa di mosca, paragonabile soltanto a quella dell'organo elettrico di torpedine e di *Electrophorus electricus* (4).

Le caratteristiche di questa attività colinesterasica sono state studiate più approfonditamente via via che progredivano le ricerche sulle colinesterasi in generale, e si è potuta così stabilire la presenza nel tessuto nervoso di vari insetti di una colinesterasi vera (4, 5) nel senso stabilito da Augustinsson (6). Le ricerche sulla colinesterasi negli insetti hanno ricevuto un impulso notevole con la diffusione degli insetticidi contenenti fosforo, la cui azione si considera da molti come legata alla loro forte attività come inibitori della colinesterasi (7, 8) mentre altri Autori ritengono che negli insetti debba trattarsi di un meccanismo diverso (9, 10).

Per quel che riguarda il DDT, l'ipotesi che anche questa sostanza abbia una azione inibitrice sulla colinesterasi degli insetti è stata sollevata spe-

---

(*) Il presente lavoro rientra nel piano di ricerche sulla mosca domestica concordato fra la Fondazione Rockefeller e l'Istituto Superiore di Sanità.

(**) *Istituto Superiore di Sanità, laboratorio di parassitologia, Roma.*

cialmente a causa della somiglianza dei sintomi dell'avvelenamento da DDT con quelli consecutivi a iniezione di eserina, e a causa del fatto che l'azione del DDT viene potenziata dalla eserina (11). Tale ipotesi è stata però subito esclusa in base alla osservazione di Richards e Cutcomp (12) che una sospensione colloidale di DDT aggiunta *in vitro* (alla concentrazione finale di 0,0001%) ad un preparato di colinesterasi di testa d'ape non provoca nessun effetto inibitorio, e in base al lavoro di Vincent, Truhaut e Abadie (13) in cui si dimostra che un preparato di DDT aggiunto sotto forma di soluzione alcoolica in diverse concentrazioni non ha alcun effetto su vari preparati di colinesterasi, fra cui uno ottenuto omogenizzando corpi interi di mosche domestiche. Altri Autori (14, 15) hanno saggiato l'effetto del DDT su preparati di colinesterasi non provenienti da insetti, sempre con risultato negativo. In tutti questi casi poteva tuttavia rimanere il dubbio che il DDT aggiunto *in vitro*, essendo insolubile in acqua, non arrivasse a entrare in contatto con l'enzima. Un'altra ipotesi è stata saggiata, e cioè che il DDT agisca non tanto coll'inibire la scissione dell'acetilcolina, ma piuttosto coll'accelerarne la sintesi oppure il passaggio da forma legata alle proteine a forma libera; Tobias e coll. (16) hanno osservato appunto un forte aumento della acetilcolina libera in mosche domestiche e in periplanete intossicate con DDT. Il loro lavoro è stato criticato recentemente da Lewis (17) per quel che riguarda il metodo, tuttavia anche Lewis mette in evidenza una quantità di sostanza acetilcolinosimile leggermente superiore nelle mosche (*Calliphora eritrocephala*) trattate con DDT che nelle mosche non trattate.

Nel frattempo si verificava il fenomeno della resistenza delle mosche al DDT, e molti studi venivano indirizzati alla ricerca di eventuali differenze fisiologiche fra mosche sensibili e mosche resistenti. In questo quadro il problema dell'esistenza di un rapporto fra DDT e colinesterasi è stato ripreso da Babers e Pratt (18) con un lavoro nel quale essi confrontano l'attività colinesterasica della testa di mosche « normali » con quella di mosche resistenti al DDT, e trovano (limitatamente ai primi 5 giorni dalla schiusura) un'attività colinesterasica nettamente maggiore nelle prime che nelle seconde. Tuttavia in un lavoro successivo (19) essi riferiscono di aver ripetuto lo stesso esperimento con gli stessi ceppi di mosche due anni dopo, e di non aver più trovato una differenza significativa. Nello stesso lavoro essi riportano anche i dati sulla titolazione della colinesterasi della testa in diversi ceppi di mosche sensibili e resistenti, e dall'esame dei dati relativi concludono che l'esistenza di una vera differenza fra l'attività della colinesterasi in ceppi di mosche sensibili in confronto con ceppi di mosche resistenti rimane in dubbio. Un elemento di incertezza deriva anche dal fatto che gli AA., pur avendo osservato forti oscillazioni dell'attività colinesterasica all'interno di singoli ceppi, fondano i confronti fra ceppi su un solo campione per ognuno di essi.

Nel presente lavoro abbiamo cercato di determinare quale fosse la portata

di queste ultime oscillazioni, eseguendo una analisi della variabilità dell'attività colinesterasica all'interno di un certo numero di ceppi. Inoltre abbiamo potuto avvantaggiarci di una condizione che mancava alle precedenti esperienze in questo campo, e cioè abbiamo potuto utilizzare ceppi di mosche geneticamente conosciuti e nella maggior parte omozigoti per geni che interessano la resistenza. Come è stato dimostrato in questi ultimi anni (20, 21, 22), la resistenza delle mosche al DDT deve essere distinta in due tipi dal comportamento geneticamente diverso: la resistenza alla azione letale (*kill resistance* o *kill-r*), che appare geneticamente polifattoriale, e la resistenza allo abbattimento (*knockdown resistance* o *kdr*), che si comporta come un carattere legato a una sola coppia di geni. Poichè è probabile che i due tipi di resistenza differiscano non solo per il loro comportamento genetico, ma anche per i meccanismi fisiologici che ne sono alla base, risulta chiara l'importanza di distinguere i due tipi di resistenza anche negli esperimenti di tipo fisiologico. Per il presente lavoro abbiamo potuto disporre di ceppi di mosche dei tre seguenti tipi: 1) ceppi sensibili, omozigoti per il gene normale *kdr* + (sensibilità alla azione di abbattimento del DDT), 2) ceppi resistenti all'azione letale e di abbattimento del DDT, omozigoti per il gene *kdr*, 3) ceppi sensibili all'azione di abbattimento, ma resistenti all'azione letale del DDT, geneticamente non ancora analizzati.

Su questo materiale abbiamo compiuto le seguenti esperienze:

1) Effetto del DDT aggiunto *in vitro* in soluzione alcoolica, sull'attività della colinesterasi della testa di mosche sensibili e di mosche resistenti alla azione letale e abbattente dell'insetticida;

2) Determinazione dell'attività della colinesterasi in diversi ceppi di mosche sensibili, resistenti, e sensibili all'azione di abbattimento ma resistenti all'azione letale del DDT.

3) Analisi della variabilità dell'attività colinesterasica all'interno di singoli ceppi.

Materiali e metodi

Le mosche (*Musca domestica L.*) erano allevate a temperatura di circa 27° in colture di massa (oppure, ove sia specificatamente indicato, in colture da coppie singole) ottenute seminando le uova, raccolte su cotone impregnato di latte, su un terreno costituito di crusca, latte in polvere e acqua (100:12:200). L'impupamento nel caso delle colture di massa avveniva in sabbia posta sul terreno al termine dello sviluppo larvale; nel caso delle coppie singole avveniva nel terreno stesso. In tali condizioni il periodo di sviluppo è di 9-10 giorni. La schiusura era controllata in modo da avere in ogni gabbia mosche schiuse entro le 24 ore. Esse venivano nutrite con zucchero e acqua.

Dopo un determinato numero di giorni, indicato volta per volta, le mosche venivano separate a seconda del sesso e decapitate sotto anestesia eterea; le

teste venivano pesate e adoperate subito, ovvero dopo esser state conservate a —20° per periodi di tempo variabili fino a un mese (senza che si potesse osservare una perdita apprezzabile della attività colinesterasica).

Le mosche adoperate appartenevano ai seguenti ceppi presenti nel nostro laboratorio:

I) *Ceppi sensibili.* Non furono mai selezionati per la sensibilità al DDT, ma in occasione di vari controlli, di cui l'ultimo eseguito durante gli esperimenti, risultarono sensibili sia all'azione abbattente che all'azione letale del DDT, e omogenei.

1) + *Roma Sensibili I* (L. La Face).
2) + *Roma Sensibili II* derivato dal precedente.
3) + *Tripoli* (G. Saccà).
4) + *Arancio* (R. Milani).
5) + *Londra* (J. R. Busvine).
6) *brown body* (C. M. Harrison).

II) *Ceppi resistenti.* Ad eccezione del ceppo *OK* si tratta di ceppi caratterizzati dalla presenza di caratteri mutanti recessivi, che in occasione di vari controlli, di cui l'ultimo eseguito durante gli esperimenti, risultarono resistenti all'azione letale e di abbattimento del DDT e omozigoti per il gene *kdr*. Nel ceppo *kdr; ocra* l'omozigosi per il gene *kdr* è stata invece ottenuta per selezione. Il ceppo *OK* è stato selezionato per la resistenza al Chlordane, e in occasione di controlli è risultato resistente anche all'azione letale e abbattente del DDT.

7) *kdr; plx* (R. Milani).
8) *kdr; ocra* (R. Milani).
9) *OK* (L. La Face).
10) *kdr; mel. dim.* (R. Milani).
11) *kdr; clipped* (R. Milani).

III) *Ceppi sensibili all'azione di abbattimento, ma resistenti all'azione letale del DDT.* Furono tutti sottoposti a selezione per alcune generazioni.

12) *Roma; kdr* + *; kill - r* (R. Milani).
13) *Ventotene; kdr* + *; kill - r* (R. Milani).
14) *Terminillo; kdr* + *; kill - r* (R. Milani).
15) + *Sardinia* (J. R. Busvine).

L'attività della colinesterasi veniva determinata col metodo manometrico di Warburg, secondo la procedura di Ammon (23). In ogni vaschetta, a 1,6 ml di Ringer 20 (NaCl 0,124 M, KCl 0,0026 M, $CaCl_2$ 0,0013 M, $NaHCO_3$ 0,024 M) venivano aggiunti nel vano principale 0,2 ml di omogenato di teste di mosca (ottenuto con un apparato del tipo Elvehjem Potter) corrispondenti a 10 mg di tessuto fresco. Nell'ampolla laterale si ponevano 0,2 ml di acetilcolina clo-

ridrato in Ringer 20 per una concentrazione finale 0,022 M. Prima di mescolare le due parti le vaschette venivano agitate per 30'; la temperatura del bagno era di 28°. Le letture venivano eseguite ogni 20' per un'ora.

Risultati

1)*Effetto del DDT sulla colinesterasi della testa di mosche sensibili e di mosche resistenti.*

Per queste prove sono state usate mosche del ceppo sensibile + *Arancio* e mosche del ceppo resistente *kdr; plx,* dell'età di quattro giorni, maschi e femmine separatamente. Il DDT veniva aggiunto in soluzione alcoolica secondo il procedimento descritto da Johnston (24), che ha permesso a questo autore di mettere in evidenza un effetto inibitorio del DDT sulla citocromo-ossidasi e la succino-ossidasi del cuore di ratto, effetto che non compariva finchè il DDT era aggiunto in soluzione oleosa. 0,05 ml della soluzione di Ringer venivano dunque sostituiti nel vano principale con 0,05 ml di alcool assoluto contenente DDT per una concentrazione finale dello 0,5‰ (0,0014 M). I controlli contenevano la stessa quantità di alcool senza DDT.

Il risultato è esposto nella tabella I nella quale i singoli dati corrispondono alla media di 4-8 frazioni dello stesso omogenato (4-8 vaschette del Warburg) con la relativa deviazione standard (*). P indica la probabilità dell'ipotesi (saggiata con il t di Student) che le differenze fra le medie dei valori ottenuti simultanetmente al Warburg con e senza DDT siano dovute al caso. Il suo elevato valore indica che tali medie non differiscono significativamente fra loro: non risulta quindi che il DDT abbia alcun effetto sull'attività della colinesterasi di teste di mosca *in vitro.*

Tabella I

Effetto del DDT in vitro *sulla colinesterasi della testa di mosche sensibili e di mosche resistenti.*

Ceppi	senza DDT		con DDT		t	g. l.	P
	ChE (1)	s	ChE	s			
♂ + *Arancio*	0,37	0,014	0,37	0,008	1,207	14	> 20 %
♀ + *Arancio*	0,33	0,005	0,37	0,022	1,316	10	> 20 %
♂ *kdr; plx*	0,39	0,017	0,37	0,014	1,772	14	> 5 %
♀ *kdr; plx*	0,38	0,018	0,38	0,013	1,034	13	> 30 %

(1) L'attività della colinesterasi (ChE) è espressa in ml di CO_2 prodotti in un'ora da 10 mg di tessuto fresco (teste intere).

* $s = \sqrt{Sx^2/(n-1)}$

2) *Determinazione dell'attività della colinesterasi in diversi ceppi di mosche sensibili e di mosche resistenti.*

Allo scopo di saggiare se vi fosse qualche rapporto fra l'attività colinesterasica e la resistenza al DDT, sono stati messi a confronto simultaneamente in ogni esperienza al Warburg omogenati di teste di mosche dell'età di due giorni (maschi e femmine separatamente) appartenenti a un ceppo sensibile e a un ceppo resistente al DDT. I ceppi (resistenti all'azione letale e abbattente, o soltanto all'azione abbattente del DDT) erano scelti a caso fra quelli presenti nel nostro laboratorio. Ogni esperienza veniva ripetuta due volte, a distanza di tempo, con una successiva generazione di mosche. I risultati del confronto fra mosche sensibili e mosche *kdr, kill-r* sono esposti nelle tabelle II (maschi) e III (femmine). I risultati del confronto fra mosche sensibili e mosche *kdr* +, *kill-r*, sono esposti nelle tabelle IV (maschi) e V (femmine).

I singoli valori riportati nelle tabelle sono le medie dei valori ottenuti da 5-6 campioni dello stesso omogenato di teste (5-6 vaschette del Warburg), con la relativa deviazione standard. I due valori medi riportati su ogni riga (appartenenti l'uno a un ceppo sensibile e l'altro a un ceppo resistente) sono stati ottenuti simultaneamente al Warburg e vengono confrontati fra loro. La probabilità (P) dell'ipotesi che la loro differenza sia da attribuire a variazioni casuali è saggiata con il t di Student ed è riportata nell'ultima colonna. Nella parte centrale della colonna vengono indicati i valori di P maggiori dell'1%, che vengono considerati come indice di una differenza non significativa fra le medie. Ai due lati compaiono i valori di P minori dell'1%, che indicano una differenza significativa fra le medie: a sinistra quando l'attività della colinesterasi è maggiore nel ceppo sensibile, a destra quando è maggiore nel ceppo resistente.

In ogni tabella si può così facilmente osservare come sono distribuite le differenze significative, e cioè abbastanza uniformemente a destra e a sinistra delle differenze non significative. Questo fa pensare alla assenza di un qualsiasi legame fra l'attività della colinesterasi e la proprietà della resistenza all'azione letale o abbattente del DDT. Se poi si cumulano in ogni tabella tutti i dati relativi ai ceppi sensibili e tutti i dati relativi ai ceppi resistenti, si rileva che la differenza fra le loro medie non è significativa.

* * *

Sui primi due ceppi da noi casualmente saggiati in ordine di tempo, avevamo voluto seguire l'attività della colinesterasi per alcuni giorni successivi al secondo, allo scopo di ripetere sul nostro materiale l'esperienza di Babers e Pratt (18). Riportiamo nella tabella VI i risultati, i quali non fanno che confermare per il terzo, quarto e quinto giorno dalla schiusura, il dato che già risulta dalle tabelle II e III per i ceppi + *Arancio* e *kdr; plx*. I valori ripor-

TABELLA II

Confronto fra maschi sensibili e maschi resistenti all'azione abbattente e letale del DDT.

(1) Sensibili			(2) kdr, kill-r			g. l.	t.	P %	
ceppo	ChE	s	ceppo	ChE	s			(1)-(2)	(2)-(1)
+ *Arancio*	0,37	0,014	*kdr; plx*	0,39	0,017	10	2,910	> 1	
»	0,36	0,025	»	0.36	0,012	10	0,440	>50	
+ *Roma Sens II*	0,23	0,012	*OK*	0,33	0,013	8	12,850		<1
»	0,25	0,012	»	0,30	0,015	10	6,800		<1
+ *Tripoli*	0,36	0,012	*kdr; mel. dim*	0,27	0,006	10	17,000	<1	
»	0,25	0,019	»	0,29	0,007	10	4,620		< 1
+ *Londra*	0,35	0,005	*kdr; ocra*	0,32	0,010	9	7,130	<1	
»	0,29	0,017	»	0,25	0,012	9	4,430	<1	
+ *Roma Sens I*	0,35	0,010	*kdr; clipped*	0,30	0,005	10	11,600	<1	
»	0,31	0,008	»	0,32	0,008	10	1,750	>10	
medie	0,312			0,313		18	0,011	>50	

TABELLA III

Confronto fra femmine sensibili e femmine resistenti all'azione abbattente e letale del DDT.

(1) Sensibili			(2) *kdr, kill-r*			g. l.	t	P %	
ceppo	ChE	s	ceppo	ChE	s			(1)-(2)	(2)-(1)
+ *Arancio*	0,38	0,006	*kdr; plx*	0,38	0,008	9	0,214	>50	
»	0,31	0,007	»	0,31	0,007	10	0	100	
+ *Roma Sens. II*	0,23	0,012	*OK*	0,30	0,013	10	6,800		<1
»	0,22	0,012	»	0,27	0,010	10	8,070		<1
+ *Tripoli*	0,29	0,007	*kdr; mel. dim*	0,24	0,016	10	6,400	<1	
»	0,23	0,006	»	0,24	0,011	10	2,170	>5	
+ *Londra*	0,23	0,012	*kdr; ocra*	0,25	0,017	9	1,990	>5	
»	0,19	0,010	»	0,20	0,008	10	2,170	>5	
+ *Roma Sens. I*	0,30	0,010	*kdr; clipped*	0,25	0,007	10	9,300	<1	
»	0,28	0,010	»	0,24	0,031	9	3,040	>1	
medie	0,266			0,268		18	0,020	>50	

TABELLA IV

Confronto fra maschi sensibili e maschi resistenti all'azione letale ma sensibili all'azione abbattente del DDT.

(1) Sensibili			(2) *kdr*+, *kill-r*			g. l.	t	P %	
ceppi	ChE	s	ceppi	ChE	s			(1)-(2	(2)-(1)
Roma Sens. II	0,29	0,005	*Roma; kdr* +; *kill-r*	0,28	0,004	10	5,560	<1	
»	0,30	0,017	»	0,28	0,005	10	2,520		>2
+ *Londra*	0,33	0,010	*Ventotene; kdr* +; *kill-r*	0,31	0,005	10	2,490		>2
»	0,38	0,008	»	0,32	0,013	10	10,250	<1	
Roma Sens. I	0,34	0,008	*Terminillo; kdr*+; *kill-r*	0,33	0,011	10	2,420		>2
»	0,35	0,012	»	0,33	0,007	10	4,180	<1	
brown body	0,31	0,010	+ *Sardinia*	0,33	0,012	10	2,350		>2
»	0,31	0,010	»	0,32	0,006	10	2,720		>2
medie. . .	0,326			0,312		14	0,234	<50	

TABELLA V

Confronto fra femmine sensibili e femmine resistenti all'azione letale ma sensibili all'azione abbattente del DDT.

(1) Sensibili			(2) *kdr*+, *kill-r*			g. l.	t	P %	
ceppi	ChE	s	ceppi	ChE	s			(1)-(2)	(2)-(1)
+ *Roma Sens. II*	0,24	0,004	*Roma; kdr* +; *kill-r*	0,28	0,012	10	7,320		<1
»	0,25	0,009	»	0,25	0,004	10	0,420	>50	
Londra	0,21	0,005	*Ventotene; kdr* +; *kill-r*	0,28	0,008	10	16,300		<1
»	0,31	0,008	»	0,29	0,004	10	6,750	<1	
+*Roma Sens. I*	0,29	0,008	*Terminillo; kdr*+; *kill-r*	0,25	0,010	10	5,870	<1	
»	0,31	0,007	»	0,28	0,020	9	3,640	<1	
brown body	0,27	0,014	+ *Sardinia]*	0.25	0,011	10	3,360	<1	
»	0,28	0,010	»	0,26	0,006	10	3,950	<1	
medie. . .	0,270			0,267		14	0,050	>50	

tati sono la media dei valori di 6 vaschette, con la relativa deviazione standard. Le differenze fra le medie totali non sono significative, come risulta dal t di Studenti per 6 gradi di libertà.

TABELLA VI

Confronto fra l'attività colinesterasica di un ceppo di mosche sensibili e un ceppo di mosche resistenti, durante i primi 5 giorni di vita.

età in giorni	maschi						femmine					
	sensibili		resistenti		t	P	sensibili		resistenti		t	P
	ChE	s	ChE	s			ChE	s	ChE	s		
2	0,36	0,025	0,36	0,012			0,31	0,007	0,31	0,007		
3	0,34	0,007	0,36	0,010			0,34	0,011	0,32	0,005		
4	0,37	0,010	0,38	0,008			0,29	0,005	0,32	0,011		
5	0,35	0,012	0,37	0,010			0,29	0,004	0,31	0,010		
media	0,355		0,367		1,50	>10 %	0,308		0,315		1,43	>20 %

3) *Analisi della variabilità dell'attività colinesterasica all'interno di singoli ceppi.*

Poichè negli esperimenti precedenti erano state notate [come è stato osservato anche da PRATT e BABERS (19)] notevoli oscillazioni dell'attività colinesterasica all'interno dei singoli ceppi, abbiamo voluto saggiare di che entità fossero queste oscillazioni e in che misura incidessero sulla variabilità totale. A questo scopo sono state confrontate fra loro le progenie (F_1) di sei coppie singole di uno stesso ceppo, allevate separatamente in condizioni il più possibile omogenee.

Dalle teste dei maschi di due giorni di età di ogni F_1 veniva fatto un omogenato, che veniva adoperato per 4 vaschette del Warburg. Questo esperimento si è potuto compiere soltanto sui ceppi *kdr; plx,* + *Tripoli* e + *Roma Sensibili II.* Con altri tre ceppi presi in esame non si è infatti riusciti a ottenere da ogni singola coppia un numero sufficiente di maschi F_1.

Sui dati ottenuti è stata compiuta una analisi della varianza che è riportata nella tabella VII.

TABELLA VII

Variabilità dell'attività colinesterasica di mosche (♂) nate da sei coppie singole appartenenti a tre diversi ceppi. Analisi della varianza.

Origine della varianza	Gradi di libertà	Somma dei quadrati	Varianza	F	$F_{0,01}$	$F_{0,05}$
Ceppi	2	5.566	2.783	2783/1604 = = 1,735	6,36	3,68
Coppie di uno stesso ceppo	15	24.058	1.604	1604/77=20,83	2,43	1,88
Vaschette	54	4.167	77			
Totale. . .	71	33.791				

Il rapporto:

$$\frac{\text{varianza fra i ceppi}}{\text{varianza fra le coppie di uno stesso ceppo}}$$

risulta inferiore ai valori tabulari di F. Ciò significa che le differenze fra i ceppi non introducono una causa di variabilità maggiore di quella introdotta dalle coppie (che possiamo considerare come compionamenti casuali dello stesso ceppo).

Questo esperimento ci fa pensare che anche le differenze fra ceppi sensibili e ceppi resistenti che nelle tabelle precedenti appaiono come significative, potrebbero in realtà essere dovute a cause accidentali.

DISCUSSIONE

Dall'esame delle tabelle II, III, IV e V risulta chiaro come in molti casi la determinazione della attività colinesterasica in un ceppo sensibile a confronto con un ceppo resistente metta in evidenza differenze che a una analisi statistica risultano nettamente significative. Se avessimo quindi preso in esame un solo ceppo di mosche sensibili e un solo ceppo di mosche resistenti, avremmo potuto supporre che la resistenza fosse in rapporto con una più o meno intensa attività della colinesterasi. Ma eseguendo la prova su numerosi ceppi, si è notata una grande variabilità dell'attività colinesterasica fra ceppi diversi aventi uguali caratteristiche di tolleranza al DDT.

Tale variabilità tuttavia non era esclusivamente attribuibile a caratteristiche di ceppo, poichè le ripetizioni fatte a distanza di tempo con successive generazioni di mosche mostravano spesso forti oscillazioni dell'attività della colinesterasi. Si è quindi proceduto all'esperimento sulla progenie di coppie singole, ed esso ha dimostrato che le oscillazioni all'interno dei singoli ceppi

erano tali da annullare la significatività delle differenze fra un ceppo e l'altro.

Da questo lavoro ci sembra quindi che si possano trarre alcune indicazioni di carattere generale riguardanti gli esperimenti di tipo fisiologico e biochimico di confronto fra mosche sensibili e mosche resistenti all'azione di un insetticida:

1) All'interno di un singolo ceppo la proprietà fisiologica presa in esame può oscillare con una ampiezza difficilmente prevedibile: prima di attribuire a un determinato ceppo una certa proprietà fisiologica, occorre quindi determinare quale sia la variabilità della proprietà stessa all'interno del ceppo.

2) Ceppi diversi di mosche, anche aventi uguali caratteristiche di tolleranza, possono d'altra parte differire profondamente fra loro per quel che riguarda una determinata proprietà fisiologica (anche se questo non sembra essere il nostro caso): fondare quindi un confronto sui risultati ottenuti da un solo ceppo di mosche sensibili e rispettivamente resistenti può indurre nell'errore di attribuire alla resistenza o meno differenze che si spiegano perfettamente con la normale variabilità fra i ceppi.

3) Tipi diversi di resistenza agli insetticidi possono inoltre essere legati a meccanismi fisiologici diversi; è utile quindi distinguerli, prendendo come campioni ceppi forniti soltanto di uno o di un altro tipo di resistenza.

Di queste considerazioni, per quanto ovvie possano sembrare, assai raramente si tien conto anche nei lavori più recenti in cui si confrontano fra loro proprietà fisiologiche o biochimiche di ceppi sensibili e di ceppi resistenti, e a questo potrebbero anche esser dovute alcune contraddizioni che si incontrano nella letteratura sull'argomento. Le ricerche sulla degradazione del DDT a DDE e ad altri composti ancora sconosciuti, quelle sulla citocromo-ossidasi e quelle sulle ossidazioni in rapporto con l'azione del DDT si fondano spesso sul confronto fra mosche sensibili e mosche resistenti, tuttavia non sempre i dati sono raccolti in modo tale da poter escludere i dubbi che derivano dalle tre considerazioni suddette.

RINGRAZIAMENTI.

E' per me un gradito dovere ringraziare qui il prof. R. MILANI, che mi ha sempre seguito in questo lavoro con suggerimenti e consigli, e mi ha fornito inoltre quasi tutto il materiale (materiale di particolare valore come si è detto perchè già studiato dal punto di vista genetico); la prof. F. BOVET NITTI per i preziosi consigli; la prof. L. LA FACE per avermi gentilmente fornito un ceppo di mosche. Ringrazio inoltre i tecnici E. e G. PIERDOMINICI per il valido aiuto prestatomi.

RIASSUNTO

1) Il DDT aggiunto *in vitro* in soluzione alcolica a omogenati di teste di mosche sensibili o resistenti all'azione dell'insetticida, non ha mostrato alcun effetto inibitorio sull'attività della colinesterasi.

2) Un esame della attività colinesterasica della testa di mosca compiuto su vari ceppi (sensibili, resistenti, e sensibili all'azione di abbattimento, ma resistenti all'azione letale del DDT) ha dimostrato l'assenza di qualsiasi rapporto fra l'attività dell'enzima e ambedue i tipi di resistenza.

3) Un esperimento compiuto sulla prole di coppie singole provenienti da tre diversi ceppi, ha dimostrato una variabilità all'interno dei singoli ceppi tale da annullare la significatività delle differenze fra un ceppo e l'altro.

SUMMARY

1) DDT added *in vitro* to head homogenates of susceptible and resistant house flies had no inhibitory acition on cholinesterase.

2) A survey of cholinesterase activity on several strains of house flies (susceptible, *knockdown* and *kill* resistant, and *knockdown* susceptible but *kill* resistant) showed no relation between enzyme activity and resistance of either type.

3) An experiment performed on the progeny of single pairs obtained from three different strains, showed a variability within the strains which abolished the significance of differences between strains.

BIBLIOGRAFIA

(1) Corteggiani E. et Serfaty A. (1939). *C. R. Soc. Biol., 131*, 1124.
(2) Roeder K. D., Kennedy N. K. and Samson E. A. (1947). *J. Neurophysiol. 10*, 1.
(3) Roeder K. D. (1948). *Bull. J. Hopkins Hosp., 83*, 587.
(4) Metcalf R. L. and. March R. B. (1950) *J. Econ. Econ. Ent., 43*, 670.
(5) Babers F. H. and Pratt J. J. Jr. (1951). *Physiol. Zool., 24*, 127.
(6) Augustinsson K. B. (1948). *Acta Physiol. Scand., 15* (Suppl. 52), 11.
(7) Metcalf R. L. and. March R. B. (1949). *J. Econ. Ent., 42*, 721.
(8) Chadwick L. E. and. Hill D. L. (1947). *J. Neurophysiol., 10*, 235.
(9) Lord K. A. and Potter C. (1950). *Nature (London), 166*, 893.
(10) Hopf *H. S.* (1954). *Ann. App. Bioogy, 41*, 248.
(11) Kearns C. and Metcalf R. L. (1944). Dept. of Entomology, Univ. of Illinois (Urbana).
(12) Richards A. G. and Cutcomp L. K. (1945). *J. Cell. Comp. Physiol., 26*, 57.
(13) Vincent D., Truhaut R. et Abadie A. (1948). *C. R. Soc. Biol., 142*, 1500.
(14) Lauger P., Pulver R., Montigel G., Wiesmann R. and Wild H. (1946). Geigy Comp. Inc.
(15) Truhaut R. et Vincent D. (1947). *Ann. Pharmaceut. Franc., 5*, 159.
(16) Tobjas J. M., Kollros J. J. and Savit J. (1946). *I. Cell. Comp. Physiol., 28*, 159.
(17) Lewis S. E. (1953). *Nature (London), 172*, 1004.
(18) Babers F. H. and Pratt J. J. Jr (1950). *Physiol. Zool., 23*, 58.
(19) Pratt J. J. Jr. and Babers F. H. (1953). *J. Econ. Ent., 46*, 700.
(20) Bruce W. and Decker G. (1950). *Soap Sanit. Chem., 26*, 122.
(21) Harrison C. (1951). *Nature (London), 167*, 855.
(22) Harrison C. (1953). *J. Econ. Ent., 46*, 528.
(23) Ammon P. (1934). *Arch. f. d. ges. Physiol., 233*, 486.
(24) Johnston C. D. (1951). *Arch. Biochem., 31*, 375.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

CHEMICALS AFFECTING THE PREIMAGINAL STAGES OF THE HOUSEFLY

V. (*) VAPOUR TOXICITY OF THE DICHLOROBENZENES TO HOUSEFLY PUPAE.

Z. H. LEVINSON (**)

p-Dichlorobenzene has been used successfully for some time as a soil fumigant against housefly pupae (Gorodetzkii & Sukhova 1936, Egorov 1940). It seemed of interest to compare the vapour toxicity of p-dichlorobenzene to housefly pupae with that of the o-and m-isomers. The experiments were carried out at saturation concentration.

Materials and Methods. A laboratory bred strain of *Musca vicina* (Macq.) was used to supply the experimental pupae. About 200 third stage larvae were selected from the rearing medium at seven days of age by the technique described recently (Ascher & Levinson 1954). The larvae were enclosed in a chamber formed by two petri dish covers (diam. 14.5 cm.) which were sealed with their open sides facing each other. The chamber was kept in an incubator at 30 $\pm$ 1°C, and after 24 hours orange-brown pupae of an average weight of 20 mg. were selected. Separate groups of pupae were subsequently exposed to an atmosphere saturated with the vapour of one of the three compounds tested. The exposure vessels were constructed of two petri dish covers, (diam 14.5 cm.) their open sides facing each other: on the bottom of the lower dish was another smaller petri dish cover, (diam 6 cm.) centrally placed, and filled with 0.5 gm. of the test compound; 25 pupae were placed on mosquito netting and the latter tightened over the open side of the inverted upper cover. The vessels were ther

(*) Part IV: Levinson and Ascher, *Riv. Parassit. 15*, 111-119 (1954).

(**) *Department of Entomology, Medical Research Laboratories, Medical Corps, Israel Defence Forces.*

sealed hermetically by adhesive tape and kept in an incubator at 30±1°C for 3, 6 and 10 hours, respectively (see Fig. 1, 1a). At the end of each expo-

Fig. 1.

sure time, the pupae were transferred from each container to 100 ml. beakers, covered with mosquito netting and kept in an incubator at 30° until emergence of adult flies was completed. A pad of cotton wool, soaked with sugar

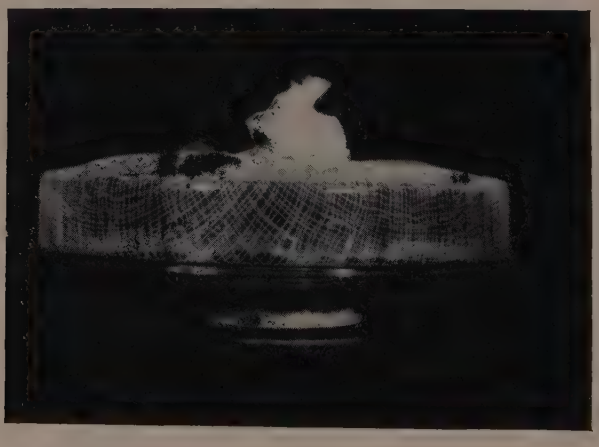

Fig. 1-a.

water, was placed on the mosquito netting to provide the emerged flies with food. Unhatched pupae and emerged adults were counted 8 days after termination of the exposure times and the percentages of emerged adults recorded.

Pure 1,4-dichlorobenzene (PDB), m.p. 53°, b.p. 173,9°, 1,3-dichlorobenzene (MDB), m.p. — 24.8°, b.p. 173° and 1,2-dichlorobenzene (ODB), m.p. — 17,6°, b.p. 179°C were used in the experiments. The three compounds were tested and compared with controls simultaneously at the three exposure times mentioned. The tests were repeated 10 times for each compound and each exposure.

Results. (Table 1). Under the conditions of the test, PDB was least toxic, causing 85 and 54 per cent mean mortality to pupae after 6 and 3 hours exposure, respectively. MDB caused 100 and 85 per cent mean mortality to pupae after 6 and 3 hours exposure, respectively. ODB brought about 98 per cent mean mortality of pupae after an exposure of 3 hours only.

TABLE 1.

% Emergence of Houseflies after Exposure of Pupae to the Dichlorobenzenes at Saturation Concentration ($T = 30 \pm 1°C$).

		% Emergence of Houseflies		
Compound	Exposure Time, Hrs.	10	6	3
PDB		0	15 ± 6	46 ± 10 (1)
MDB		0	0	15 ± 5
ODB		0	0	2 ± 2
Control			94 ± 2	

(1) In an average of 10% of the cases recorded as unhatched pupae, the flies had died after having pushed through the pupal skin with their ptilinum, having their thorax and abdomen inside.

SUMMARY

At saturation concentration, the order of toxicity of the dichlorobenzenes to housefly pupae was as follows: o > m > p.

RIASSUNTO

L'ordine di tossicità dei diclorobenzeni in soluzioni sature, verso le pupe della mosca domestica, è risultata la seguente: o > m > p.

BIBLIOGRAPHY

Ascher, K. R. S. & Levinson, Z. H. (1954) *Riv. Parassit. 15*, 51 - Part III.

Egorov, P. I. (1940) - *Med. Paras. 9* (5), 528.

Gorodetzkii, A. S. & Sukhova, M. N. (1936) *Med. Paras. 5*, 303.

Levinson, Z. H. & Ascher, K. R. S. (1954) *Riv. Parassit. 15*, 111, - Part IV.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

CONSIDERAZIONI GENETICHE SU ALCUNI ASPETTI DELLA BIOLOGIA DELLA MOSCA DOMESTICA E OSSERVAZIONI SULLA FECONDITA' E SULLA FERTILITA' (*)

RICCARDO MILANI (**)

La mosca domestica (*Musca domestica* L.) è una specie ubiquitaria con ritmo riproduttivo veloce e con limitate capacità di spostamento (***). Inoltre presenta una elevata eterogeneità genetica. Queste proprietà, anche singolarmente considerate, sono favorevoli ad un frazionamento della specie in gruppi etnici più o meno grandi — talora morfologicamente distinguibili — legati a particolari condizioni ambientali.

La differenziazione, morfologica o fisiologica, può essere conseguenza di fenomeni biologici tra loro profondamente diversi: può essere dovuta a risposte primarie dei singoli individui a stimoli estrinseci specifici; oppure questi ultimi possono agire sulle probabilità che individui intrinsecamente diversi hanno di contribuire alla generazione successiva: in questo caso si iniziano processi selettivi che porteranno ad una popolazione le cui caratteristiche non sono dovute a risposte primarie ma conseguono allo affermarsi e diffondersi di fenotipi preadattati già esistenti nella popolazione originaria (adattamento secondario).

Quando noi osserviamo individui diversi dal normale non siamo in grado di stabilire se le differenze sono dovute a interferenze esterne o di natura genetica con il loro sviluppo. Fattori ambientali che perdurino nel tempo possono agire su generazioni successive e su tutti gli individui di popolazioni

---

(*) La prima parte della presente nota fu integralmente letta in occasione del XXVI Convegno della Unione Zoologica Italiana (Padova 15-18 settembre 1954).

(**) *Istituto Superiore di Sanità. Laboratorio di Parassitologia. Roma.*

(***) Condizioni ecologiche particolari possono provocare o favorire migrazioni individuali o dispersioni di popolazioni, con spostamenti accertati anche di 15 miglia (West L., 1951). Tuttavia anche in questi casi eccezionali, gli spostamenti non sono tali da neutralizzare gli effetti dell'isolamento geografico. Anche la immigrazione per trasporto passivo da parte dell'uomo non incide sulle caratteristiche delle popolazioni locali (Patton, 1936, 1937).

limitate conferendo loro una facies particolare (ecofenotipi), oppure possono modificare le frequenze geniche (ecotipi, varietà geografiche, sottospecie). E' possibile stabilire se lo spostamento dalla norma si limita al fenotipo oppure è legato a modificazione del genotipo soltanto prolungando lo studio a generazioni allevate in condizioni controllate.

G. Saccà ha osservato che se durante lo sviluppo larvale della mosca agiscono basse temperature risultano modificati due caratteri di valore diagnostico subspecifico: l'indice cefalico e la pigmentazione dell'addome (Saccà, G., 1953). Tuttavia questi stessi caratteri possono variare all'interno di popolazioni anche piccole (come la progenie di una singola femmina) per cause genetiche (Milani, R., 1953, 1954). Le popolazioni naturali presentano sempre non solo grande variabilità ma per taluni caratteri un vero e proprio polimorfismo che denota elevata eterogeneità genetica (Milani, R., ibidem).

La situazione tassonomica riflette le conseguenze della plasticità dell'organismo studiato. Le stesse entità tassonomiche sono considerate talora specie legate a grandi regioni geografiche o a zone climatiche (Patton, W. S., 1932, 1933, 1936, 1937; C. h' I Ho 1938), talora sottospecie, forme o varietà (Malloch, I. R., 1932; van Emden, F. 1939-1948; Sabrosky, C. W., 1952). In un recente contributo G. Saccà (1953) ha conservato la nomenclatura trinomia — e con questa il rango di sottospecie — alle categorie subspecifiche *domestica, vicina, nebulo* e *cuthbertsoni*. Queste categorie differiscono tra loro per caratteri ereditabili (Saccà G. 1951; Peffly, R. L., 1952), quindi di natura genetica correlati alle condizioni generali predominanti nel loro habitat, come le modificazioni impresse al fenotipo di *Musca domestica* da taluni fattori ambientali suggeriscono.

Turesson, nel 1922 coniò un termine per indicare «the product arising as a result of the genotypical response of a species to a particular habitat» introducendo il termine *ecotipo* (citato in Spurway, 1952), termine che ebbe maggiore successo tra i botanici che tra gli zoologi e potrebbe essere calzante almeno per *domestica, vicina* e *nebulo* (per *cuthbertsoni* le informazioni sono ancora troppo scarse). Tuttavia è ovvio che quando la distribuzione spaziale di un ecotipo si estende ad ampie regioni geografiche il termine ecotipo diviene sinonimo di sottospecie; se gli areali di due popolazioni geneticamente differenziate sono contigui e continui, nelle zone di contatto gli scambi genici potranno essere tanto frequenti da portare alla formazione di popolazioni intermedie; queste occuperanno fascie territoriali la cui ampiezza dipenderà dall'equilibrio tra le pressioni geniche che tendono ad ampliarla (queste sono tanto più intense quanto maggiori sono la fecondità e le possibilità di spostamento individuale) e la pressione dei fattori selettivi che tendono a limitarla.

Ho ricordato più sopra che popolazioni naturali mostrano un vero polimorfismo per taluni caratteri, in particolare pigmentazione dell'addome chetotassi e indice cefalico; potremmo includere anche la resistenza a taluni insetticidi come risposta a fattori ecologici improvvisamente comparsi. Tutti i caratteri

cui ho accennato sono ereditabili, taluni con controllo mendeliano semplice, altri sono polifattoriali; tutti sono fissabili in linee notevolmente omogenee.

I caratteri polimorfi rivelano eterogenità genetica ma non ci possono dare indicazioni sulla entità della eterogeneità latente, dovuta ai recessivi portati allo stato eterozigote. Questa nella mosca domestica è molto grande. Praticamente da tutti gli individui raccolti in natura si possono ricuperare con l'ininCrocio dei mutanti recessivi; ne ho recuperati fino a sette da una singola femmina selvatica fecondata (Milani, R., 1953, 1954).

Questi recessivi hanno talune proprietà comuni che meritano considerazione:

1) I primi individui mutanti che si isolano in seguito ad ininCrocio sono di solito pochissimi, il che denota elevata mortalità preimaginale tra gli omozigoti recessivi.

2) E' frequente la incapacità di lasciare progenie.

3) L'espressività è variabile e la penetranza raramente completa (solo cinque su circa quaranta mutazioni isolate hanno penetranza completa). In molti casi ciò è provatamente dovuto a geni inibitori.

4) Alcune mutazioni sono ricorrenti in popolazioni certamente separate e per qualcuna è documentato che furono ripetutamente osservate a distanza di decenni in luoghi tra loro lontani.

5) Un certo numero di esse sono estremamente frequenti allo stato eterozigote e sono osservabili allo stato omozigote in popolazioni naturali o in ceppi di laboratorio.

6) Talune mutazioni sono state ripetutamente trovate associate negli stessi individui benchè vi sia motivo di dubitare che ciò sia dovuto a concatenazione genetica.

7) Oltre alle mutazioni riconoscibili per un effetto morfologico sono comunissime mutazioni letali, legate al sesso ed autosomiche.

Da questo quadro possiamo dedurre che il genotipo della mosca domestica è carico di geni recessivi altamente sfavorevoli allo stato omozigote e che il genotipo stesso è corredato di fattori atti a limitarne gli effetti a noi visibili. Ma la prima difesa che la specie ha contro di essi è l'esincrocio. Questo è favorito da talune caratteristiche etologiche, in particolare dalla tendenza alla gregarietà, che è osservabile durante varie funzioni vitali come la nutrizione (Barnhart, C. S. e Chadwick, L. E. 1953) il pernottamento e l'ovodeposizione e dalla notevole mobilità.

Dati sulla fecondità e sulla fertilità individuale, che saranno esaminati tra breve, dimostrano quanto l'ininCrocio incida negativamente sul potenziale biotico (Chapman, R. N. 1928; cit. in D'Ancona U. 1942) di questa specie.

Desidero ora richiamare l'attenzione su di un fatto più volte osservato da me e rilevate anche da altri (Snyder, F. 1952). La selezione per un carattere è spesso accompagnato da selezione passiva di altri caratteri, talora morfologicamente riconoscibili. Il fatto in sè non può meravigliare: però, pur essendo un postulato della genetica (e forse per questo), non è abbondante la casistica

in proposito, come si può rilevare da una recente nota su questo argomento (Sokal, R. R., 1954).

I casi di selezione passiva da me osservati nella mosca sono così classificabili: 1) dovuti presumibilmente a coesistenza obbligata di geni; 2) dovuti ad azione additiva sul fenotipo del gene sottoposto a selezione; 3) presumibilmente accidentali (deriva genetica): saranno oggetto di una particolareggiata trattazione in un lavoro successivo.

Naturalmente se ricordiamo l'elevato grado di eterogeneità genetica caratteristica della mosca, risulta ovvia la probabilità di provocare fenomeni osservabili di deriva genetica in ogni sistema di incrocio che limiti le possibilità di scambio tra un gruppo riproduttivo e la comunità genica di origine. Nella mosca è dunque particolarmente evidente che la selezione non può rimanere confinata ad un singolo carattere; in un organismo con un sistema genetico imperniato sulla eterozigosi possono interevenire, oltre alla concatenazione azioni mutualistiche tra cromosomi a porre una ulteriore limitazione alla indipendenza dei caratteri. Questo fatto è stato citologicamente dimostrato in altre specie (Philip U. et all. (1944); Brunetto A. M. (1954)).

Possiamo ora domandarci se l'esincrocio è sempre e soltanto favorevole. Finora ho incontrato due casi di incroci tra ceppi tra loro separati in cui furono evidenti effetti disgenici negli individui F_1 . Uno fu nell'incrocio ♀ *+Tripoli* × ♂ *+Latina* con comparsa di alterazioni agli sterniti in una parte degli individui F_1 di alcune coppie, l'altro nell'incrocio di un ceppo da molti anni in laboratorio (*ocra*, sin. *occhi bianchi*) con uno più recente (*+arancio*). Le alterazioni furono a carico delle setole dorsocentrali anteriori, e diedero luogo a fenotipi caratteristici di *M. d. cuthbertsoni*: nel primo caso il carattere non ricomparve più, nell'altro si attenuò nelle generazioni che seguirono.

Osservazioni sulla fecondità e sulla fertilità.

I dati quì riportati derivano da osservazioni compiute su femmine raccolte in natura e loro discendenti e su femmine di ceppi e di incroci fra ceppi di laboratorio.

Sono presentati in due gruppi separati per le differenze di origine e perchè l'allevamento differì in qualche particolare. Infatti le femmine del primo gruppo furono chiuse nelle piccole colture per ovodeposizioni subito dopo la cattura o la schiusura, mentre quelle del secondo gruppo furono dapprima tenute in gabbiette per circa una settimana affinchè la maturità sessuale venisse raggiunta in condizioni ambientali migliori. Inoltre nelle colture che fornirono il primo gruppo di dati, l'impupamento avvenne in sabbia posta sul pabulum larvale; le pupe furono raccolte per setacciamento e poste a completare lo sviluppo in recipienti di vetro, seguendo così la tecnica di uso corrente in questo laboratorio al momento degli esperimenti. Nelle colture riunite nel secondo gruppo, l'impupamento avvenne nel pabulum larvale e le pupe non furono ri-

mosse; perciò gli individui in corso di sviluppo non furono disturbati da alcuna operazione manuale dopo la semina delle uova. Queste differenze tecniche possono quindi avere inciso sia sulle fecondità delle madri sia sullo sviluppo post-larvale dei figli.

I dati riguardanti la fecondità e la schiudibilità delle uova furono ottenuti ponendo le femmine presunte fecondate (P) o le coppie (F_1, F_2) isolatamente (dopo anestesia con etere etilico) in colture per ovodeposizione (bicchierini da 25 cc contenenti sul fondo un batuffolo di cotone bagnato di latte). Giornalmente, fino a morte della femmina, furono trasferite con anestesia da CO_2, in una uguale coltura fresca. Le ovodeposizioni furono accuratamente raccolte e le uova, trasferite su rettangoli di carta scura bagnata (cm. 2×4 ca) furono contate al binoculare separandole con l'aiuto di soluzione fisiologica per sciogliere la sostanza agglutinante che le riunisce. Dopo il conteggio i rettangoli furono ripiegati in modo da porre le uova tra due pagine protettive, e furono affondati nel pabulum larvale (crusca 1000, latte in polvere 120, acqua 2000). I conteggi relativi alla schiudibilità furono effettuati dopo 24 ore e controllati dopo un eguale lasso di tempo.

Osservazioni su femmine raccolte in natura e su loro discendenti

Le femmine della generazione parentale furono raccolte in natura a Latina, (8 maggio 1953), all'inizio del ciclo annuale di sviluppo. Le coppie F_1 e F_2 furono formate nelle prime 24 ore dopo lo sfarfallamento, con mosche digiune per prevenire accoppiamenti incontrollati. Le coppie furono sempre fatte con individui tra loro fratelli.

Le osservazioni compiute hanno permesso di constatare:

a) il numero di ovodeposizioni effettuate da ogni femmina,
b) il numero di uova emesse in ogni ovodeposizione,
c) il numero di uova schiuse,
d) il numero di adulti ottenuti da ogni ovodeposizione.

Fecondità. I dati sulla fecondità sono esposti nelle tabelle 1 e 2. In insetti che depongono le uova a gruppi, differenze di fecondità possono presentarsi a due livelli: nel numero di ovodeposizioni e nel numero di uova per ovodeposizione. Nella tabella 1 sono riportati i numeri di femmine di ogni generazione, classificate a seconda del numero di ovodeposizioni.

Le condizione di allevamento, profondamente diverse dall'ambiente ecologico naturale, non consentono estrapolazioni sulla fecondità della specie in natura, ma permettono un confronto tra le generazioni essendo queste state allevate in eguali condizioni. Nelle tre generazioni osservate un numero non trascurabile di femmine non depose uova. Questo fatto non è attribuibile a morte precoce, come dimostra il confronto tra la vita media delle femmine sterili (gg. 14,50) e di quelle feconde (gg. 17,65); l'età media alla prima ovodepo-

sizione fu di gg. 7,86; le differenze tra le generazioni non sono significative (tra F_1 e F_2 $chi^2 = 1,83$); riunendo i dati delle tre generazioni si ha una frequenza media percentuale di 28,97 femmine sterili.

TABELLA 1

Frequenza di femmine feconde e numero di ovodeposizioni per femmina

Generazioni	Femmine esaminate	Femmine feconde	n° ♀♀ feconde / n. ♀♀ esam.	Ovodeposizioni per femmina 0	1	2	3	4	5	$\bar{x}$	s
P: . . .	29	21	0,73	8	6	5	6	3	1	1,76	1,50
F_1: . . .	48	37	0,77	11	11	13	10	3	—	1,64	1,23
F_2: . . .	30	18	0,60	12	11	4	3	—	—	0,93	0,97
	107	76		31	28	22	19	6	1	1,47	1,28

Le frequenze delle classi non suggeriscono differenze tra le femmine delle generazioni P e F_1, mentre è evidente nella F_2 una diminuzione del numero di femmine che effettuarono più ovodeposizioni: queste furono 26 su 48 nella F_1 e 7 su 30 nella F_2; il saggio del chi^2 rivela eterogeneità ($chi^2 = 5,98$; $P < 0,02$), cioè attitudine diversa ad effettuare ripetute ovodeposizioni nelle femmine delle due generazioni considerate (F_1 e F_2).

Nella tabella 2 sono riportati il numero delle ovodeposizioni e quelle delle uova deposte ad ogni generazione. I numeri medi di uova deposte ad ogni ovodeposizione sono molto vicini e non differiscono significativamente.

Possiamo quindi asserire che passando dalla F_1 alla F_2 fu osservata una diminuzione della fecondità media. La diminuzione è determinata da riduzione del numero di ovodeposizioni effettuate da ogni femmina, mentre il numero medio di uova emesse in ogni ovodeposizione non subì variazioni significative.

TABELLA 2

Numero medio di uova nelle ovodeposizioni

Generazione	Ovodeposizioni	Totale	Uova $\bar{x}$	Uova s
P	48	4·042	84,21	28,41
F_1	70	6·129	87,56	20,69
F_2	26	2·432	93,54	19,90
totale	144	12·603	87,52	23,49

Talune femmine effettuarono ovodeposizioni successive con numeri vicini di uova; la analisi della varianza effettuata sulle femmine con almeno tre ovodeposizioni ((tab. 3) indica, con scarsa significatività, che il numero di uova di ogni ovodeposizione può dipendere da caratteristiche individuali.

TABELLA 3

Fecondità individuale. Analisi della varianza.

Origine delle variaz oni	Devianza	Gradi libertà	Va ianza	F
Ripetizioni . .	30	2	15	—
Coppie . . .	12·885	19	678,15	2,13
Residua . . .	12·082	38	317,94	—
Totale . . .	24 997	59	—	—

$F_{(0,01)}$ per 19 e 38 gr. lib. = 2,43
$F_{(0,05)}$ » » » = 1,87

Schiudibilità. I dati sulla schiudibilità sono esposti nelle tabelle 4 e 5; nella tabella 4 sono indicate le frequenze di femmine sterili (0 ovodeposizione), non inseminate (con deposizioni di uova tutte sterili) e fertili. Nella generazione P, 7 femmine su 29 risultarono non inseminate; questa proporzione appare elevata in un campione raccolto in natura: è verosimile che sia attribuibile a particolari circostanze occasionali, quali temperatura inferiore all'optimum (inizio di maggio ore 10 ca.) e raccolta del materiale dopo la prima ondata giornaliera di sfarfallamenti; questi ultimi infatti hanno un ritmo giornaliero con due massimi, uno mattutino, l'altro pomeridiano.

TABELLA 4

Frequenza di femmine sterili, non inseminate e fertili

	Sterili	Femmine non inseminate	Fertili	Totale
P : ♀ raccolte in natura	8	7	14	29
F_1 : coppie . . .	11	0	37	48
F_2 : coppie . . .	12	2	16	30

I controlli sulla schiudibilità, limitati alle ovodeposizioni delle femmine fertili, non poterono essere effettuati su tutti i gruppi di uova; le osserva-

zioni fatte sono riportate nella tabella 5 in cui compare anche la frequenza percentuale di uova non schiuse in ogni generazione. Tale frequenza sale da 4,35% nella generazione parentale a 20,79 nella F_2.

TABELLA 5

Schiudibilità delle uova

	Ovodeposizioni controllate	Uova deposte	Uova non schiuse	% Uova non schiuse
P : . .	28	2·421	106	4,35
F_1 : . .	62	5·405	459	8,49
F_2 : . .	21	1·958	407	20,79

Fertilità. Il numero di figli generati da ogni femmina è determinato dal numero di ovodeposizioni, dal numero di uova di ogni ovodeposizione, dalla schiudibilità delle uova e dalla capacità delle larve schiuse di proseguire lo sviluppo fino allo stadio adulto. La perdita di gameti femminili e di zigoti stabilisce la differenza esistente tra fecondità e fertilità.

Il numero medio di individui adulti ottenuti dallo sviluppo di una ovodeposizione permette una prima valutazione della fertilità. Dalla tabella 6 risulta chiaramente la notevole diminuzione progressiva del numero di individui ottenuti da ogni coltura osservata nel passaggio dalla P alla F_1 alla F_2.

TABELLA 6

Adulti ottenuti da ogni ovodeposizione

	Ovodeposizioni (colture)	Adulti ottenuti	$\overline{x}$
P : . . .	25	1·100	44,00
F_1 : . . .	66	1·785	27,05
F_2 : . . .	14	275	19,64

Tuttavia la diminuzione della fertilità è in realtà assai maggiore (tabella 7) poichè diminuisce anche il numero di ovodeposizioni per femmina. Nel caso in esame la fertilità si è abbassata di circa il 50% ad ogni successiva generazione: se l'abbassamento procedesse con ritmo uguale nelle generazioni seguenti, già alla quarta la fertilità sarebbe tanto ridotta da provocare estinzione della linea. La pratica insegna in effetti che in un sistema di stretto inincrocio è difficile superare la quarta generazione.

TABELLA 7

Fertilità

Generazione	Uova per ovodeposizioni	Deposizioni per femmina	Adulti per ovodeposizioni	Adulti per femmina	Fertilità relativa
P : . . .	84,21	1,65	44,00	72,60	1
F_1 : . . .	87,56	1,46	27,05	39,49	0,54
F_2 : . . .	93,54	0,86	19,64	16,89	0,23

Riepilogando, in questo gruppo di esperimenti, in cui venne praticato stretto inincrocio, fu constatato che:

1) le femmine della seconda generazione furono sensibilmente meno feconde di quelle della generazione precedente; l'abbassamento di fecondità è dovuto a diminuzione delle ovodeposizioni, mentre il numero di uova per ovodeposizione è rimasto immutato.

2) la schiudibilità delle uova subì una progressiva diminuzione già apprezzabile tra le uova deposte da femmine F_1 (zigoti F_2), e fortissima nella generazione successiva (femmine F_2, zigoti F_3).

3) la fertilità media subì una fortissima contrazione ad ogni successiva generazione risultando approssimativamente dimezzata.

Questi fatti sono presumibilmente da imputarsi all'inincrocio, benchè la impossibilità di confrontare questo gruppo di dati con una serie esincrociata impedisca una valutazione critica.

OSSERVAZIONI SU FEMMINE DI CEPPI E DI INCROCI TRA CEPPI DI LABORATORIO.

Questo gruppo di dati deriva da colture preparate per ricerche sulla ereditarietà di mutanti di *Musca domestica*. Le coppie F_1 ebbero varia composizione: *a*) fratelli con sorelle (inincrocio); *b*) individui di eguale costituzione genetica nei loci marcati ma non imparentati (esincrocio); *c*) individui figli dello stesso maschio parentale e di madri diverse (inincrocio parziale). Di solito i gruppi di uova ottenuti da ogni coppia furono raccolti su cotone e latte e poi trasferiti sul pabulum larvale. Talune femmine effettuarono una sola ovodeposizione, altre ne effettuarono due in giorni successivi. In questi casi i due gruppi di uova furono riuniti nello stesso terreno di coltura. In un'altra serie sperimentale le femmine mature fecondate vennero poste direttamente sul pabulum ed ivi lasciate: in questo caso non fu quindi controllato il numero di ovodeposizioni di ogni singola femmina. Nella tabella 8 le colonne corrispondono ai tre modi di allevamento e le righe al sistema di incrocio. Sono riportate le medie per coltura e, tra parentesi, il numero di colture F_2 osservate (e quindi di femmine F_1 di cui è stata registrata la fertilità).

TABELLA 8

Sistema di incrocio, metodo di coltura e fertilità. Numero medio di figli generati da coppie di individui ottenuti con esincrocio.

Tipo di incrocio	Una Ovodeposizione per coltura	Femmina sul pabulum larvale	Due Ovodeposizioni per coltura
Inincrocio . .	42,21 (n = 19)	54,07 (n = 13)	128 (n = 12)
Esincrocio . .	60 (n = 14)	62,31 (n = 19)	175,85 (n = 12)
Inincrocio . .	—	49,60 (n = 20)	—
Inincrocio parziale	—	84,50 (n = 8)	—

L'esincrocio e l'inincrocio parziale hanno dato sempre fertilità media più elevata dell'inincrocio; inoltre il metodo di allevamento incide notevolmente sul numero di zigoti che raggiungono lo stadio adulto; infatti le colture con due gruppi di uova hanno dato una media di individui adulti circa tripla anzichè doppia di quella attendibile in base ai dati delle colture con un solo grupp.

Una interpretazione alternativa di quest'ultimo fatto è che l'effettuare due ovodeposizioni in giorni successivi sia espressione di una fecondità particolarmente elevata manifestantesi anche con un aumento del numero di uova emesse in ogni ovodeposizione; durante le osservazioni sulla fecondità non fu raccolto nessun elemento che possa appoggiare questa ipotesi.

I dati quì presentati limitandosi alla F_2, non possono dare un'idea completa degli effetti dell'inincrocio prolungato. In questi casi si raggiunge presto sterilità; ciò si verifica sia in allevamenti fatti con coppie singole, sia in allevamenti di massa in cui non sia possibile avere un numero sufficiente di riproduttori. Per molte mutazioni, gruppi di una decina di coppie ad ogni generazione sono risultati insufficienti per mantenere il ceppo. Tuttavia in questi casi non è provato che l'inincrocio sia l'unico o il maggior responsabile della estinzione.

La fertilità varia molto da ceppo a ceppo ed è di solito assai più elevata nelle femmine raccolte in natura durante la stagione estiva che in quelle dei ceppi di laboratorio. (Milani R. non pubblicato). Come abbiamo visto, le uova vengono deposte a gruppi di un centinaio circa, ed ogni femmina può dare numerose ovodeposizioni. Dai protocolli di un serie di esperimenti di incrocio ho potuto ricavare un gruppo di dati sulla fertilità individuale, raccolti in condizioni rigorosamente confrontabili, benchè i singoli dati provengano da esperimenti impostati per altro scopo. Da questi risulta che il numero di adulti

che si ottiene da ogni ovodeposizione tende per ogni femmina ad essere costante anche se si scosta notevolmente dal numero medio di uova: questo fatto indica mortalità preimaginale non accidentale (tab. 9).

TABELLA 9

Fecondità di singole ♀♀

Ovodeposizioni					Totale	
♀ P	1ª	2ª	3ª	4ª		$\bar{x}$ (♀♀)
20	25	37	24	8	94	27,0
605	89	57	78	42	266	66,5
522	39	45	49	56	189	47,2
526	62	67	54	62	245	61,2
225	8	18	4	21	51	12,2
SX	223	224	209	189	845	211,0
$\bar{x}_{ov}$	44,6	44,8	41,8	37,8	169	41,1

Analisi della varianza

Origine variazione	Devianza	Gradi libertà	Varianza	F	$F_{(0,01)}$
Ripetizioni	160	3	53,3	—	
Coppie	8·783	4	2195,7	12,98	~ 3
Residua	2·029	12	169,1	—	—
Totale	10·972	19			

Nel corso di vari esperimenti, talune femmine vennero poste in condizioni di effettuare più ovodeposizioni. I dati riuniti nella tabella 9 si riferiscono alle femmine che hanno deposto almeno 4 gruppi di uova, ed ai primi quattro di questi. Oltre al numero degli individui adulti ottenuti da ogni coltura sono indicate sulle righe la fertilità media di ogni femmina e in corrispondenza delle colonne le medie tra i gruppi ottenuti da deposizioni di eguale numero d'ordine. L'analisi della varianza conferma quanto la semplice ispezione dei dati suggerisce: le differenze tra femmine sono assai maggiori che tra gruppi

di uova di una stessa femmina. Infatti la varianza riferibile alle ripetizioni è inferiore a quella residua (dovuta a cause incontrollate), mentre la varianza tra le coppie è tanto grande da non potere essere attribuita al caso.

Il rapporto fra i sessi è di solito regolare però si possono avere colture con soli maschi e con sole femmine, e colture con un sesso in numero doppio dell'altro; questo è imputabile a letali legati al sesso, e il fatto che si possa avere il caso di due maschi per ogni femmina (rapporto sessi = 2) suggerisce che il cromosoma Y sia geneticamente attivo nella sua parte omologa a parte del cr. X.

Questo secondo gruppo di dati permette di riconoscere nell'inincrocio la causa della diminuzione di fertilità nella successione di generazioni osservata nel primo gruppo di dati.

La prova dell'esistenza di caratteristiche individuali di fertilità (e quindi di eterogeneità nelle popolazioni) convalida le osservazioni statisticamente non molto significative precedentemente compiute sulla costanza del numero di uova emesse da ogni femmina in ogni ovodeposizione (individualità della fecondità).

La fertilità osservata nel secondo gruppo di dati è notevolmente superiore a quella del primo: è verosimile che ciò sia da attribuire alle diverse condizioni di allevamento, perfezionate in base alla esperienza precedentemente acquisita.

Nel loro complesso questi dati comprovano che basta un solo inincrocio per provocare effetti deleteri riconoscibili in momenti diversi del ciclo vitale di *Musca domestica;* questi effetti, cumulandosi, provocano una diminuzione tanto grande del potenziale biotico, che una sequenza di poche generazioni in linee sottoposte ad un sistema di stretto inincrocio è sufficiente per esaurire la possibilità di sopravvivenza.

Il presente lavoro rientra nel piano di ricerche sulla mosca domestica concordato tra la Rockefeller Foundation e l'Istituo Superiore di Sanità.

RIASSUNTO

Alcune caratteristiche biologiche della mosca domestica sono favorevoli ad un frazionamento della specie in gruppi etnici classificati in categorie di rango inferiore. I caratteri che differenziano le sottospecie sono ereditari e sembrano corrispondere alle modificazioni che alcuni dei fattori climatici predominanti nei loro habitat hanno sul fenotipo di *domestica.*

Il polimorfismo osservato in alcuni caratteri e il carico di geni recessivi portati allo stato eterozigote suggeriscono che il sistema genetico di questa specie tenda a mantenere uno stato di eterozigosi nella specie

Le mutazioni finora isolate presentano talune caratteristiche comuni, che sono descritte.

La selezione di un carattere è stata spesso accompagnata da selezione passiva di altri, per effetto di meccanismi diversi.

Sono ricordati due casi in cui l'incrocio di ceppi tra loro geneticamente separati fu accompagnato da effetti disgenici riconoscibili nel fenotipo.

Il sistema di incrocio e l'affollamento larvale influiscono sulla fecondità e sulla fertilità; questi fatti sono documentati con dati originali.

SUMMARY

Some biological characteristic of the house-fly favour the subdivision of the species into geographical populations classified in categories of lower rank. The characters which differentiate the subspecies are hereditary, and apparently correspond to modifications produced in the phenotype of the species by the prevailing climatic conditions of the habitat.

The polymorphism which has been observed in some characters and the reserve of recessive genes carried in the heterozygous state suggest that the genetic system of this species tends to keep it in a heterozygous condition.

The mutations isolated up to date show some common characteristics, which are described.

Selection of one character has often been found to be accompanied by the passive selection of others, as a result of the effect of various mechanisms.

Two cases are reported in which crossing of genetically separate strains was accompanied by dysgenic effects recognisable in the phenotype.

The method of crossing and crowding of the larvae influence fecundity and fertility. These fact are documented and fresh data provided.

BIBLIOGRAFIA

West L. S. (1951). The Housefly *Comstock Publ. Comp.* Ithaca (N. Y.).

Patton W. S. (1936). Studies on the higher Diptera of medical and veterinary importance. III. A pratical guide to the Ethiopian species. *Ann. Tropp. Med. & Parasitol. 30*, 469-490.

Patton W. S. (1937). Studies on the higher Diptera of medical and veterinary importance. IV. A practical guide to the oriental species. *Ann. Trop Med & Parasitol., 31*, 127-140.

Saccà G. (1953). Contributo alla conoscenza tassonomica del «gruppo» *domestica* (Diptera, Muscidae). *Rend. Ist. Sup. San.*, XVI: 442-464.

Milani R. (1953). The genetics of the housefly. Preliminary note. IX Int. Congr. Genetics, Bellagio.

Milani R. (1954). Genetic aspects of the development of resistance to chemical insecticides. *Ist International Symposium on the control of insect vectors of disease*, 253-274. Ist. Sup. San., Roma.

Patton W. S. (1932). Studies on the higher Diptera of medical and veterinary importance: a revision of the species of the genus *Musca* based on a comparative study of male terminalia. I. The natural grouping of the species and their relationship to each other. *Ann. Trop. Med. & Parasitol. 26*, 347-405.

Patton W. S. (1933). Studies on the higher Diptera of medical and veterinary importance. II. A pratical guide to the palaearctic species. *Ann. Trop. Med. & Parasitol., 27*, 327-345, 397-430.

Ch'i Ho (1938). The significance of the female terminalia of houseflies as a grouping character. *Ann. Trop. Med. & Parasitol, 32*, 287-312.

Malloch I. R. (1932). Muscidae of the Marquesas Islands. *Bull. Bioshop Mus., 98*, 193-203.

Van Emden F. (1939). Ruwenzori expedition 1934-5. Vol. II., nr. 3, pag. 49-89. Muscidae: Muscinae and Stomoxydinae. British Mus. (Nat. Hist.).

Van Emden F. (1948). Expedition to South-West Arabia 1937-8, Vol. 1, n. 14, pg. 161-175. Diptera Muscidae. British Mus. (Nat. Hist.).

Sabrosky C. W. (1952). Houseflies in Egypt. *Amer. Jour. Trop. Med. Hyg., 1*, 333-336.

Saccà G. (1951). Esperienze di incrocio fra *Musca domestica* L., *Musca vicina* Mq., *Musca nebulo* F. *Rendiconti Ist. Sup. San.*, XIV: 937-943.

Peffly R. L. (1952). Crossing and sexual isolation of Egyptian forms of *Musca domestica* (Diptera, Muscidae). *Evolution*, VII: 65-75.

Spurway H. (1952). Can wild animals be kept in captivity? *New Biology* 13: 11-30.

Barnhart C. S. e Chadwick L. E. (1953). A « fly factor » in attractant studies. *Science*, 117, n. 3031: 104-105.

Chapman R. N. (1928). The quantitative analysis of environmental factors. *Ecology*, IX, 11.

D'Ancona U. (1942). La lotta per l'esistenza *Einaudi*, Torino.

Snyder F. (1952). Conference on Insecticide Resistance and Insect Physiology (Discussione alla relazione di L. E. Chadwick). *Nat. Res. Counc. publ. n. 219*, 7.

Sokal R. R. e Hunter P. E. (1954). Reciprocal selection for correlated quatitative characters in Drosophila. *Science*, 119: 649-651.

Philip U., Rendel J. M., Spurway H., Haldane J. B. S. (1944). Genectis and Kariology of *Drosophila subobscura*. *Nature* (London) 154: 260-262.

Brunetto A. M. (1954). I cromosomi politenici delle ghiandole salivari di *Drosophila ambigua* Pomini. II, Inversioni eterozigoti. *Sci. Gen. IV*, 214-222.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XVI - N. 4 - Ottobre 1955

NOTE E OSSERVAZIONI

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLA DIFFUSIONE DELLE PARASSITOSI INTESTINALI NELLA CITTA' DI ROMA

Nella mia pratica di esami di laboratorio ho avuto occasione di effettuare negli ultimi due anni 300 esami di feci. I soggetti, in grande prevalenza adulti, rappresentano naturalmente una popolazione di carattere particolare in quanto regolarmente affluenti all'esame per più o meno accentuati disturbi a carico dell'apparato digerente; essi costituiscono tuttavia, trattandosi in ogni caso di abitanti di una grande città, un gruppo discretamente omogeneo, e penso pertanto che possa essere di un certo interesse, quale contributo alla conoscenza delle condizioni parassitarie appunto di una grande città, il riferire sugli esiti degli esami parassitologici compiuti (esame diretto in soluzione fisiologica ed in Lugol; esame dopo arricchimento per i protozoi sec. Kershaw e sec. Faust; per gli elminti con soluzione satura di NaCl.

Sui 300 soggetti esaminati hanno presentato parassiti 110 e cioè il 36,67%. Le specie repertate, con le rispettive percentuali di frequenza, sono indicate nel seguente specchietto:

Entamoeba coli	23,00%
Entamoeba histolytica minuta	0,66%
Endolimax nana	1,67%
Iodamoeba bütschlii	2,67%
Chilomastix mesnili	6,67%
Giardia intestinalis	6,00%
Taenia saginata	1,00%
Enterobius vermicularis	0,66%
Ascaris lumbricoides	1,23%
Trichuris trichiura	5,33%

34 soggetti, pari all'11,33% dei soggetti esaminati ed al 30,90% di quelli parassi-

tati, hanno presentato più di un parassita. Riporto le varie forme di associazione parassitaria rilevate con il rispettivo numero dei casi:

E. coli + *E. histolytica minuta* 1
E coli + *E. nana* 3
E. coli + *J. bütschlii* 2
E. coli + *C. mesnili* 6
E. coli + *G. intestinalis* 7
E. coli + *T. saginata* 2
E. coli + *A. lumbricoides* 1
E. coli + *T. trichiura* 3
E. histolytica minuta + *C. mesnili* 1
E. nana + *C.mesnili* 1
C. mesnili + *G. intestinalis* 2
A. lumbricoides + *T. trichiura* 2
E. coli + *J. bütschlii* + *T. trichiura* 1
E. coli + *C. mesnili* + *G. intestinalis* 1
E. coli + *C. mesnili* + *T. trichiura* 1

Guido Agostinucci

Direttore responsabile: Dott. E. Mosna

Soc. An. Poligrafica Italiana Roma, Via della Guardiola, 22

INDICE DEL VOLUME VXI

1955

AGOSTINUCCI G. — Contributo alla conoscenza dei Coccidi di *Talpa europaea* Pag. 217

ASCHER K. R. S. — Insect - Resistance to Dieldrin. A Survey of the Literature . . . . . » 31

BETTINI S. e BOCCACCI M. — Azione tossica degli acidi iodo e cloroacetico sugli insetti. Inibizione della triosofosfato deidrogenasi . . . » 13

BETTINI S., BOCCACCI M. e ROSSI C. — Destino dell'acido bromoacetico marcato con C^{14} inoculato in *Periplaneta americana* . . . . . » 103

BUCCO G. e CHIEFFI G. — Sulle varietà morfologiche di *Entamoeba histolytica*. II. Variazione del diametro dei ceppi . . . . . » 3

BUCCO G. e CHIEFFI G. — Sulle varietà morfologiche di *Entamoeba histolityca*. III. Diametro e potere patogeno . . . . . » 65

FILIPPONI A. — Sulla natura dell'associazione tra *Macrocheles muscaedomesticae* e *Musca domestica* . . . . . » 83

FILIPPONI A. — Un nuovo caso di arrenotochia nei Macrochelidi. (*Acarina, Mesostigmata*) . . . . . » 145

FRONTALI N. — Attività della colinesterasi in ceppi sensibili e in ceppi resistenti al DDT di *Musca domestica* L. . . . . » 241

GERZELI G. — Ricerche istochimiche ed istomorfologiche sui Tripanosomidi (Microscopia a contrasto di fase ed interferenziale) . . . » 209

LEVINSON Z. H. — Nutritional requirements of Insects . . . . 113 e 183

LEVINSON Z. H. — Chemicals affecting the preimaginal stages of the housefly. V. Vapour toxycity of dichlorobenzenes to housefly pupae . » 253

LIPPARONI E. — Presenza del *Simulium damnosum* nella zona del medio Uebi Scebeli . . . . . » 231

LIVADAS G. — The effectiveness of residual insecticides on malaria vectors in Greece. (Experimental tests and epidemiological observations) . » 169

LIVADAS G. & PETRIDES I. — The susceptibility of body louse to DDT in Greece . . . . . » 237

MILANI R. — Considerazioni genetiche su alcuni aspetti della biologia della mosca domestica e osservazioni sulla fecondità e sulla fertilità » 257

PENSO G. — Giulio Alessandrini . . . . . » 1

RICCI M. e CORBO S. — Sull'azione dell'idrato di piperazina verso *Enterobius vermicularis* . . . . . » 73

ROSSI-ESPAGNET A. e CAPONE M. — Primi risultati del frazionamento elettroforetico di estratti proteici di organismi parassitari . . . . » 225

ROSSI-ESPAGNET A. e SALERA U. — Infestazione da *Gongylonema pulchrum* nell'uomo . . . . . » 221

SOBRERO L. — Su una miasi del cane in Somalia . . . . . » 7

Riviste sintetiche.

RADFORD C. D. — Acarology - or the study of Mites (Acarina) . . . Pag. 41

Note e Osservazioni.

AGOSTINUCCI G. — *Haemoproteus columbae* parassita di *Columba oenas* L. » 205

AGOSTINUCCI G. — Contributo alla casistica delle infestazioni da *Dipylidium caninum* nell'uomo in Italia . . . . . » 206

AGOSTINUCCI G. — Contributo alla conoscenza della diffusione delle parassitosi intestinali nella città di Roma . . . . . » 271

LIPPARONI E. — Reazione allergica da puntura di *Megaponera foetens* » 139

RICCI M. — Sulla diagnosi della ossiurosi con il metodo di Graham . » 59

VEROLINI F. — Persistenza della immunità innata al *Plasmodium gallinaceum* in galline faraone splenectomizzate . . . . . » 205

Recensioni . . . . . » 61

» . . . . . » 141

» . . . . . » 207

Notizie . . . . . » 143

Necrologi: DOMENICO PUJATTI (M. R.) . . . . . » 63

Roma — Società Anonima Poligrafica Italiana - Via della Guardiola, 22 - Telefoni: 64.917 - 688.360